

**Die diabetische Nephropathie
Pathogenese und Klinik mit spezieller
Berücksichtigung der Früherkennung durch die
radioimmunologische Albuminbestimmung im Urin**

Christel Schlagmann

*Thiss
im chen
704*

Aus dem Institut für Diabetesforschung München

Vorstand: Prof. Dr. H. Mehnert

Prof. Dr. O. Wieland

Die diabetische Nephropathie
Pathogenese und Klinik mit spezieller
Berücksichtigung der Früherkennung durch die
radioimmunologische Albuminbestimmung im Urin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Christel Schlagmann
aus Dülmen

München 1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. W. Kemmler

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Mehnert

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 08. 11. 1984

Für meine Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

All denen, die das Entstehen der Arbeit gefördert haben, möchte ich nicht vergessen meinen Dank auszusprechen, insbesondere Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Kemmler für die Überlassung des Themas sowie seine freundliche Betreuung. Ferner danke ich den Herren Dr. H. Walter und Dr. E. Edelmann für die Diskussionsbereitschaft bei manchem angefallenen fachlichen Problem. Nicht zuletzt gilt mein Dank Hanni Summer für viele gute Ratschläge bei der praktischen Durchführung der Arbeit und Hans-Rüdiger Schwab, der mir bei der Schlußredaktion der Arbeit behilflich war.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung und Zielsetzung	1
2. Zur Pathogenese der diabetischen Nephropathie	3
2.1. Definition	3
2.2. Das klinische Krankheitsbild	3
2.2.1. Symptomatik und Differentialdiagnose	3
2.2.2. Nephropathie und Retinopathie	5
2.2.3. Nephropathie und Hypertonie	6
2.2.4. Die Häufigkeit des Auftretens der Nephropathie	7
2.3. Der histologische Befund	8
2.4. Chronische Hyperglykämie und/oder genetische Faktoren als Voraussetzungen der diabetischen Spätschäden	15
2.5. Folgen der diabetischen Stoffwechsellaage und mögliche Konsequenzen für die Entwicklung der Mikroangiopathie	20
2.6. Funktionelle und morphologische Veränderungen der Niere in ihrer pathogenetischen Bedeutung für die Nephropathie	24
2.6.1. Funktionelle Veränderungen	25
2.6.1.1. Der Renale Plasmafluß	28
2.6.1.2. Der transkapilläre Druckgradient	30
2.6.1.3. Der Ultrafiltrationskoeffizient	34
2.6.2. Die Entwicklung morphologischer renaler Veränderungen	36
2.6.2.1. Renale morphologische Veränderungen bei Tieren	36
2.6.2.2. Frühe morphologische Veränderungen in der menschlichen Niere	39
2.6.2.3. Die Entwicklung chronischer morphologischer Veränderungen	40
2.6.2.4. Zusammensetzung und Stoffwechsel der Basal- membran	42
2.6.2.5. Mechanismen der Basalmembranverdickung	45

2.7. Die vermehrte Proteindurchlässigkeit als Parameter der Nierenschädigung	52
3. Die radioimmunologische Bestimmung der Albuminurie	62
3.1. Laborgeräte und Substanzen	63
3.2. Methoden	65
3.2.1. Die Jodierung von Albumin	65
3.2.1.1. Lösungen und Substanzen für die Jodierung	67
3.2.1.2. Durchführung der Jodierung	68
3.2.1.3. Ergebnis der Jodierung	70
3.2.2. Der Radioimmunoassay für Albumin	73
3.2.2.1. Lösungen und Verdünnungsschemata	73
3.2.2.2. Die Durchführung des Assays	76
3.2.2.3. Ergebnisse des Albuminassays	78
3.2.2.3.1. Bestimmung der Bindungskapazität	78
3.2.2.3.2. Wahl des geeigneten Assaypuffers	78
3.2.2.3.3. Isolierung des Antigen-Antikörper-Komplexes	79
3.2.2.3.4. Meßbereich des Assays	79
3.2.2.3.5. Präzisionskontrolle	79
3.2.2.3.6. Wiederfindungsversuch	80
3.2.2.3.7. Serienmäßige Urinverdünnungen	80
3.3. Klinische Erprobung des Albuminassays	83
3.3.1. Bestimmung der Mikroalbuminurie bei Gesunden	83
3.3.2. Bestimmung der Mikroalbuminurie bei Diabetikern	83
3.3.2.1. Tägliche Messung der basalen Albuminurie	85
3.3.2.2. Bestimmung der basalen Albuminurie in einem längeren Zeitintervall	91
3.3.2.3. Der Belastungstest zur Provokation einer gesteigerten Albuminurie	94
4. Zusammenfassung	97
5. Literaturverzeichnis	100
6. Lebenslauf	125

1. Einleitung und Zielsetzung

Das größte noch ungelöste Problem bei der Behandlung des Diabetes mellitus ist bis heute die Beeinflussung von spezifischen Spätkomplikationen. Sie bestimmen, seitdem sich nach Einführung des Insulins die Lebenserwartung von Diabetikern aufgrund einer geringeren Komahäufigkeit zunächst sehr verbessert hat, die Prognose dieser chronischen Stoffwechselstörung. Bei spätem Diabetesbeginn (Typ-II Diabetikern) sind arteriosklerotische Komplikationen, die sogenannte Makroangiopathie typische Begleiterscheinungen, während bei jüngeren Patienten (Typ-I Diabetikern), vor allem Veränderungen im Bereich der Kapillaren, als Ausdruck der Mikroangiopathie, gefürchtet sind. Klinisch besonders gravierend ist hierbei ein Befall der Gefäße von Augen und Nieren, als deren Folge Blindheit und Urämie auftreten können.

Aus vielen epidemiologischen Untersuchungen geht hervor, daß die Nephropathie eine der wichtigsten Komplikationen des juvenilen Diabetes mellitus darstellt, und sich besonders auf die Lebenserwartung der davon betroffenen Patienten auswirkt: Bei Pima Indianern in Arizona, einer wegen der besonders hohen Diabetesinzidenz gerade hinsichtlich der Spätkomplikationen gründlich untersuchten Bevölkerungsgruppe, soll die diabetische Nephropathie sogar die dominierende Form der Nierenerkrankungen sein (51). In den USA insgesamt handelt es sich bei 25% aller Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz um Diabetiker (34). Und aus einer kürzlich veröffentlichten britischen Arbeit geht hervor, daß bei der statistischen Untersuchung der jährlichen Todesursache von Diabetikern, die Patienten, die vor ihrem 31. Lebensjahr erkrankt waren, in fast der Hälfte der Fälle von der Nephropathie betroffen waren und, daß knapp zwei Drittel dieser Patienten an Nierenversagen starben (93).

Das Ziel vorliegender Arbeit war es, als Vorbereitung und Teil einer prospektiven Langzeitstudie einen Radioimmunoassay für Albumin, zur Früherfassung der diabetischen Nephropathie, im Labor zu etablieren und seine Anwendung zu überprüfen. Im Rahmen

dieser noch laufenden Studie soll die Auswirkung einer langfristigen optimalen Stoffwechseleinstellung vor allem mit Hilfe von Insulin-Dosiergeräten mit kontinuierlicher Insulininfusion auf die Entwicklung der Spätkomplikationen untersucht werden.

Um zu zeigen, welchen Stellenwert und welche Erkenntnismöglichkeiten die Bestimmung der Mikroalbuminurie bietet, ist eine weitere Aufgabe der Arbeit den derzeitigen Stand des Wissens zur Pathogenese und Klinik der diabetischen Nephropathie darzustellen.

2. Zur Pathogenese der diabetischen Nephropathie

2.1. Definition

Mit dem Begriff "diabetische Nephropathie" wurde, nach Kuhlmann, ein vieldeutiger und mißverständlicher Ausdruck geprägt, der, 1911 von Aschoff ohne nähere Definition eingeführt, nur sehr allgemein zum Ausdruck bringen sollte, daß krankhafte Veränderungen der Nieren von Diabetikern den degenerativen, chronischen Nephropathien zuzuordnen seien (60).

1936 gelang es den Pathologen Kimmelstiel und Wilson erstmals, anhand ihrer Obduktionsergebnisse, die typischen histologischen Veränderungen an der Niere als Folgen des klinischen Krankheitsbildes Diabetes mellitus aufzuzeigen (56).

Der Begriff "diabetische Glomerulosklerose" bezeichnet den charakteristischen pathologisch-histologischen Befund, der Ausdruck "diabetische Nephropathie" soll hier für das klinische Krankheitsbild verwendet werden, obgleich hierfür bis heute ein spezifischer klinischer Parameter zur Definierung fehlt, und dies oftmals die differentialdiagnostische Abgrenzung erschwert (60, 68).

2.2. Das klinische Krankheitsbild

2.2.1. Symptomatik und Differentialdiagnose

Die klassischen Symptome des Kimmelstiel-Wilson Syndroms sind bei langer Diabetesdauer, neben Hypertonie, Dysproteinämie und Ödemen, eine starke Proteinurie und andere Zeichen der renalen Dekompensation (8,60,160). Die Gesamtheit dieser Erscheinungen wird jedoch nur bei einem geringen Teil der Patienten beobachtet (8,60,163). Die Klinik der diabetischen Nephropathie kann anfänglich sehr untypisch und schleichend verlaufen (8,60,159). Mit zunehmendem Funktionsverlust der Niere entwickelt sich jedoch ein irreversibler Prozess mit prognostisch sehr schlechten Aussichten

hinsichtlich der Lebenserwartung der davon betroffenen Patienten (106,158,161). Sobald eine persistierende klinische Proteinurie auftritt, beträgt die Überlebensrate im Durchschnitt noch 7 Jahre. Steigt gleichzeitig die Kreatinin-Clearance an, verringert sie sich weiter auf 2-5 Jahre (24,160).

Liegt das Auftreten des Diabetes mellitus erst wenige Jahre zurück, müssen zunächst immer mögliche andere Erkrankungen der Niere ausgeschlossen werden (60,163). Differentialdiagnostisch sind vor allem eine Glomerulonephritis oder Pyelonephritis abzugrenzen. Die Nierenbeckenentzündung tritt bei Diabetikern doppelt so häufig auf, wie bei Nicht-Diabetikern. Sie führt bei ersteren häufiger zu Urämie und betrifft vor allem Frauen. In bis zu 35% der Fälle von Pyelonephritis bei Diabetikern kann eine Papillennekrose auftreten. Urogenitaltrakt-Infekte treten nicht nur im Zusammenhang mit einer autonomen Neuropathie mit Blasendysfunktion vermehrt auf. Auch Amyloidose und Nierensteine können die Ursache einer Proteinurie sein. Nicht zu vergessen sei die Proteinurie bei Herzinsuffizienz oder bei Hypertonie. Als weitere mögliche Ursache von Ödemen muß vor allem eine Herzinsuffizienz ausgeschlossen werden (60,163).

Der klinische Befund einer diabetischen Nephropathie wird hingegen wahrscheinlich, wenn bei über 10jährigem Krankheitsverlauf unspezifische, oben genannte Nierensymptome auftreten, und zusätzlich eine Retinopathie vorliegt, oder plötzlich weniger Insulin benötigt wird und die renale Glukoseausscheidung in Relation zum Blutzuckerspiegel stark abnimmt. Die Ursache einer verminderten Glukosurie ist die relativ frühzeitige Erhöhung der Nierenschwelle für Glukose (60). Als Gründe für einen verminderten Bedarf an Insulin kommen mehrere Faktoren in Frage: Es werden sowohl ein verminderter renaler Insulinabbau, als auch eine Hemmung der renalen Insulinausscheidung beobachtet; daneben soll, bedingt durch den starken Eiweißverlust, die Glukoneogenese in der Leber vermindert sein, in der Peripherie jedoch eine gesteigerte Glukoseutilisation bei erhöhter Permeabilität der Zellmembranen auftreten (60,74).

Eindeutig zu diagnostizieren ist die diabetische Glomerulosklerose ausschließlich durch eine Nierenbiopsie (60,66,68,122,150,160). Natürlich sollte die Indikation zu diesem Eingriff strengen Bedingungen unterworfen sein: erst wenn sich aus differentialdiagnostischen Schwierigkeiten therapeutische Konsequenzen ergeben würden, wäre ein solches invasives Eingreifen zu rechtfertigen. Vom klinischen Standpunkt aus dürfte es diagnostisch meist ausreichend sein, das Ausmaß der Proteinurie zu bestimmen. Nach Ausschluß besonders von Herzinsuffizienz, Hochdruck und Urogenitaltrakt-Infekten soll bei wiederholtem Nachweis einer Proteinurie von über 0.5 g/24h dieser Befund in über 90% der Fälle mit dem histologisch-pathologischen Bild der diabetischen Glomerulosklerose korrelieren (24,108,160,161).

2.2.2. Nephropathie und Retinopathie

Die meisten Patienten mit Nephropathie zeigen schwere Augenhintergrundveränderungen und über 50-80% derjenigen mit persistierender Proteinurie oder fortgeschrittener Nephropathie weisen Gefäßveränderungen im Sinne einer proliferativen Retinopathie auf (1,22,158). Im Verlauf der Urämie muß in mindestens 25% der Fälle mit Blindheit gerechnet werden (22,34,93,158). Nach einer Untersuchung von Watkins lag bei allen Patienten, die an Urämie starben eine Retinopathie vor (158). Das Vorhandensein von Augenhintergrundveränderungen dient im Allgemeinen zwar als Indiz für das Vorliegen einer Glomerulosklerose bei auffälligem klinischen Nierenbefund (8,60,74), allerdings leidet die Mehrheit der Patienten mit proliferativer Retinopathie offensichtlich nicht gleichzeitig an einer Nephropathie (1,161).

Auch die Retinopathie als Spätkomplikation ist in ihrem Auftreten abhängig von der Diabetesdauer (96). Die Veränderungen an den Kapillaren der Augen entwickeln sich jedoch nicht unbedingt

in strenger Korrelation zu Veränderungen an den Nierengefäßen, ja es wird sogar berichtet, daß sie unabhängig voneinander vorkommen können (141,147). Ob eine unterschiedliche Reaktionsweise der Kapillarsysteme von Augen und Nieren allerdings in einer grundsätzlichen funktionellen als auch strukturellen Heterogenität zu sehen ist (96), erscheint angesichts des generalisierten Auftretens der Mikroangiopathie zweifelhaft. Auf die pathophysiologische Relevanz funktioneller Veränderungen für die Nephropathie wird später noch einzugehen sein.

2.2.3. Nephropathie und Hypertonie

Im Verlauf der Nephropathie geht mit dem Auftreten einer klinischen Proteinurie häufig eine Hypertonie einher (8,29,108). Sie wird von vielen Autoren als zusätzlicher Faktor bei der Progression der Nierenschädigung angesehen (40,88). Ihre Ätiologie ist weitgehend ungeklärt (29). Obgleich unter den nicht-insulinpflichtigen Diabetikern besonders adipöse Patienten betroffen sind, und gerade die Fettsucht als ein ursächlicher Faktor bei der Entstehung der Hypertonie diskutiert wird, scheint sich sowohl in der Gruppe der Typ-I als auch der Typ-II Diabetiker insgesamt mit zunehmenden Alter überdurchschnittlich häufig eine systolische Hypertonie auszubilden. Erst eine diastolische Blutdruckerhöhung bei Typ-I Diabetikern wird als ein Hinweis für eine vorliegende diabetische Nierenschädigung gewertet (29).

Mogensen stellte eine Korrelation zwischen renalem Funktionsverlust und Blutdruckanstieg fest (83). Ebenso konnte er nach 6jähriger konsequenter Therapie der Hypertonie bei Diabetikern mit renaler Spätschädigung ein langsames Fortschreiten der renalen Insuffizienz nachweisen, im Vergleich zur alleinigen Insulinbehandlung (88). Auch Parving beobachtete eine geringere Einschränkung der Glomerulären Filtrationsrate, als Ausdruck der progressiven Niereninsuffizienz, nach Behandlung der Hypertonie bei Patienten mit diabetischer Nephropathie (109).

2.2.4. Die Häufigkeit des Auftretens der Nephropathie

Aussagen über die Prävalenz der Nephropathie ergeben in der Literatur ein recht breites Spektrum. Dies mag darauf zurückzuführen sein, daß sowohl die mangelnde Standardisierung der Kriterien und Methoden, als auch die spezifische Patientenauswahl in einer Fachklinik eine Verzerrung der statistischen Auswertung ergeben (8,22,51,158,161). Bemerkenswert ist jedoch, daß in allen Studien immer nur ein gewisser Prozentsatz der untersuchten Patienten renale Spätfolgen des Diabetes aufwies.

Als repräsentative epidemiologische Erhebung sei hier eine 1981 veröffentlichte dänische Studie herausgegriffen: In einem sich über 20 Jahre hinaus erstreckenden Zeitraum entwickelten von 1452 insulinabhängigen Diabetikern 34% eine Nephropathie. 80% dieser Patienten waren verstorben, davon 78% an Urämie, 11% an koronarer Herzkrankheit und 4% an zerebralen Insulten. Eine klinisch meßbare Proteinurie hatte sich bei den meisten Patienten nach 12-25 Jahren Krankheitsdauer entwickelt, nur bei 6% nach weniger als 10 Jahren. Bei Patienten, die über 40 Jahre mit einem Diabetes mellitus lebten, wurde hingegen nur in seltenen Fällen eine Proteinurie beobachtet. Das Risiko eine persistierende Proteinurie zu entwickeln, erwies sich bei Diabetesbeginn zwischen 0-10 Jahren signifikant höher als bei späterem Ausbruch der Erkrankung, und bei Männern höher als bei Frauen (24).

In einer ähnlichen Studie überstieg die Mortalität von Diabetikern die der restlichen Bevölkerung um das 2-6 fache, bei Diabetikern mit Proteinurie war sie nochmals um den 3-4 fachen Wert größer (22). Anders verhält es sich beim Beginn des Diabetes im höheren Lebensalter: hier spielt die Nephropathie als Todesursache kaum noch eine Rolle (22), wohingegen vor allem kardiovaskuläre Komplikationen im Vordergrund stehen (31,161).

2.3. Der histologische Befund

Das histologisch-pathologische Bild der veränderten Glomerula, wie es Kimmelstiel und Wilson anhand lichtmikroskopischer Untersuchungen als herdförmige zentrale hyaline Verdickung des interkapillären Bindegewebes beschrieben (56), tritt als Befund nur in 9-25% aller glomerulosklerotischen Nieren auf (163). Es handelt sich hierbei um pathognomonische noduläre Strukturen, die wohl eine fortgeschrittene mesangiale Verdickung repräsentieren (68, 134), deren Zusammensetzung und Entwicklung jedoch bis heute nicht ganz geklärt sind (163).

Sehr viel häufiger findet sich diffus im Glomerulum verteilt dichtes Gewebe, welches bei PAS-Färbung intensiv rot erscheint (60,96,160). Es entspricht der elektronenmikroskopisch charakteristischen Verdickung der glomerulären Basalmembran und der Volumenzunahme des Mesangiums. Einige Forscher nehmen an, daß die nodulären Veränderungen aus den diffusen entstehen (8,96, 141,160).

Morphologisch eindrucksvoll, aber für die Diagnose der Nephropathie weniger wichtig, sind eine heterogene Gruppe von Veränderungen, die als sogenannte exsudative Läsionen zusammengefaßt werden. Sie treten erst relativ spät im Verlauf der Glomerulopathie auf. Zu ihnen zählen etwa die Fibrinoidkappen ("fibrin caps"), halbmondförmige Strukturen, die auch bei anderen Nierenerkrankungen zu beobachten sind (60,96). Sie entsprechen verödeten Kapillarschlingen (60). Die "capsular drops", halbkreisförmige Ablagerungen in der Bowmanschen Kapsel, können schon in sehr frühen Stadien vorkommen, ohne daß sonstige Veränderungen am glomerulären Gefäßknäuel festzustellen sein müssen. Sie werden als spezifische Erscheinungen der diabetischen Glomerulosklerose angesehen (60,66,96). Arteriosklerotische Veränderungen scheinen zum Bild der Glomerulosklerose dazuzugehören, obgleich sie zum Teil als separate Schädigungen angesehen wurden (60,161). Eine arterioläre Hyalinose mit bruchstückhafter Verdickung der Wände des vas afferens und efferens besitzt pathognomonische Bedeutung,

wenn beide Gefäßanteile betroffen sind (8,64,66,96,163).

Diffuse und noduläre Veränderungen dürfen nicht als Folge einer allgemeinen Arteriosklerose interpretiert werden, da letztere, sofern kein Diabetes besteht, zu einer ischämischen Atrophie der glomerulären Gefäßschlingen führen würde, nicht aber zu den oben geschilderten Veränderungen (8).

Tubuläre Veränderungen werden im Allgemeinen als Sekundärfolgen der Glomerulosklerose bewertet (8).

Eine übersichtliche Zusammenstellung der eben geschilderten zu erwartenden lichtmikroskopischen Befunde bei der Glomerulosklerose zeigt die von Mauer zusammengestellte Übersicht (Tab.1).

Zur genauen Beurteilung der morphologischen Veränderungen wie Basalmembranverdickung und Vermehrung der mesangialen Matrix reichen die lichtmikroskopischen Bilder nicht aus (96), sondern es werden hierfür zusätzlich elektronenmikroskopische Bilder benötigt. Ganz allgemein stellt sich in solchen Aufnahmen die glomeruläre Basalmembran als eine weitgehend homogene Schicht zwischen den kapillären Endothel- und Epithelzellen dar, nur an manchen Stellen aufgelockert von einem fibrillären Netzwerk (8, 96). Sehr viel heterogener stellt sich dagegen die mesangiale Matrix dar, mit unterschiedlichen optisch dichten Granula, lamellenartigen Körperchen und Lipidtröpfchen. Das glomeruläre Mesangium dient als interkapilläres Stützgerüst und besteht aus Bindegewebszellen und mesangialer Matrix. Die Matrix ist eine basalmembranähnliche Substanz. Periphere Ausläufer dieses bindegewebigen Stützgerüsts konvergieren zentral am axialen Pol des Glomerulum und verlaufen sich ausserhalb desselben im juxtaglomerulären Apparat und an der distalen tubulären macula densa (66). Eine schematische Darstellung eines Querschnitts durch die glomerulären Kapillarschlingen (Abb.1) und ein Längsschnitt durch ein Glomerulum (Abb.2) verdeutlichen die räumlichen Verhältnisse der einzelnen Strukturen zueinander.

Bei Diabetikern breitet sich das mesangiale Bindegewebe in den subendothelialen Raum aus und vergrößert somit die Kontaktflächen

zwischen Glomerulärer Basalmembran, Epithel und Mesangium. Die mesangiale Expansion in der Niere diabetischer Patienten läßt sich, wie in Abb. 3 gezeigt, durch Berechnung der Oberflächenverhältnisse der betroffenen Strukturen zueinander quantitativ erfassen. Aus einer kürzlich veröffentlichten Studie geht hervor, daß die mesangiale Verdickung eng korreliert sein soll mit den funktionellen renalen Veränderungen bei der Nephropathie, also einer Abnahme der glomerulären Filtrationsrate, einer klinischen Proteinurie und Hypertonie (69).

Tab. 1: Das histologische Bild der Glomerulosklerose beim Menschen (nach 66)

immer vorhanden *	häufig vorhanden	manchmal vorhanden
-Verdickung der glom. Basalmembran, bes. betroffen lamina densa	-Kimmelstiel-Wilson-Noduli ^o (noduläre Glomerulosklerose)	-hyaline subendotheliale "exsudative" Läsionen
-mesangiale Verbreiterung, es dominiert vermehrtes Matrixmaterial	-afferente und efferente glom. arterioläre Hyalinisierung ^o	-"capsular drops" an der parietalen Oberfläche der Bowmanschen Kapsel ^o
-intensive Immunfluoreszenz Nachweis von Albuminablagerungen in der glom. und tubul. Basalmembran und in der Bowmanschen Kapsel	-tubuläre Basalmembranverdickung	

* Kombination der Befunde diagnostisch beweisend für diabetische Nephropathie

^o sehr charakteristisch für die diabetische Nephropathie

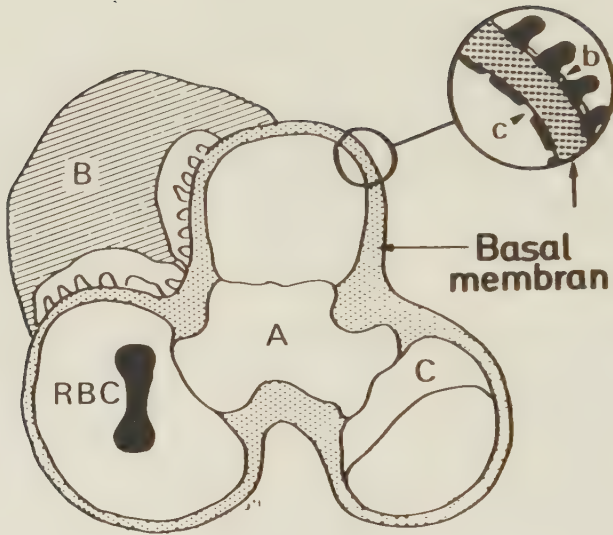


Abb.1: Die Anordnung der glomerulären Kapillarschlingen (nach 8)
A) Mesangium B) Epithelzelle mit Fußfortsätzen, die die Basalmembran umschließen. Die Epithelzellen oder Podozyten bilden die innere Auskleidung des Lumens der Bowman'schen Kapsel C) Endothelzelle, als innere Auskleidung des Kapillarlumens, befindet sich in enger Nachbarschaft zum Mesangium RBC) Rotes Blutkörperchen in der Kapillare

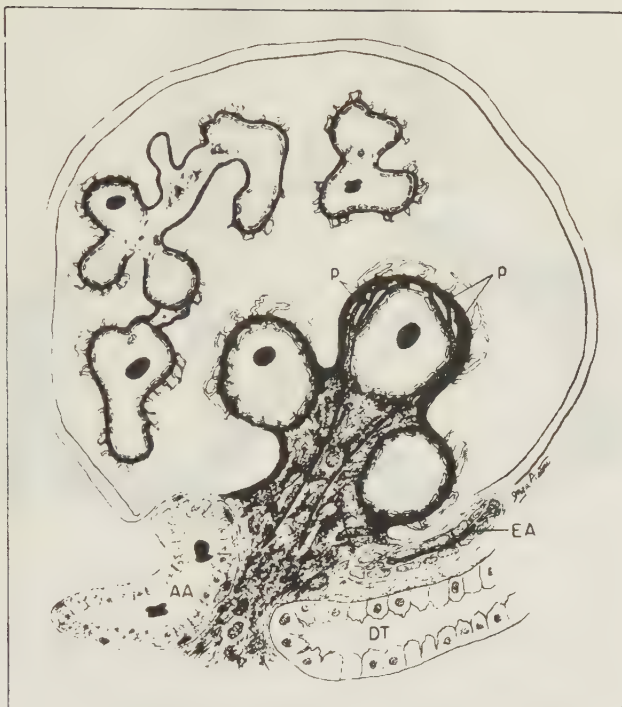


Abb.2: Schematische Darstellung des Mesangium in seinem Verhältnis zum axialen Pol des Glomerulum (nach 66)
p) Cytoplasmafortsätze der Mesangiumzellen, die sich in den subendothelialen Raum schieben AA) vas afferens EA) vas efferens DT) distaler Tubulus

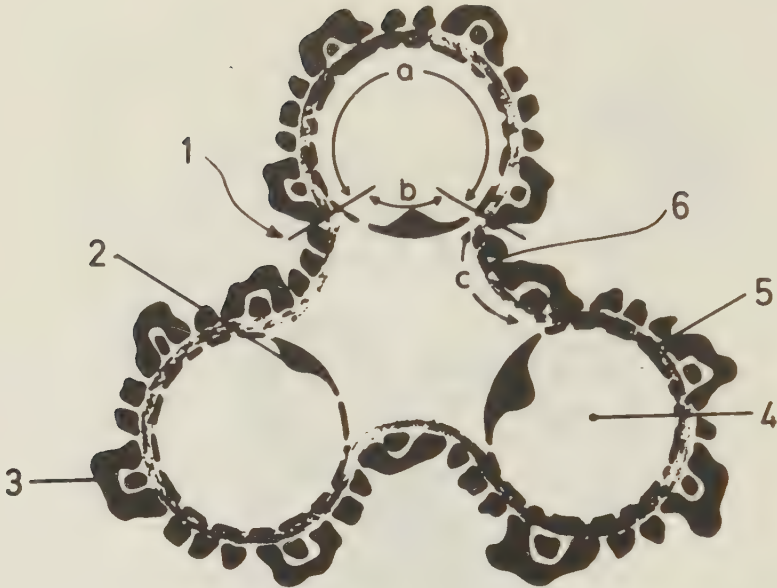


Abb.3: Die Ausbreitung des Mesangium bei Diabetikern (nach 137)

1. Grenze zwischen peripherer glomerulärer Basalmembran (GBM) und Mesangium, 2. Endothel-, 3. Epithelzelle, 4. Kapillarlumen, 5. periphere GBM, 6. GBM zwischen Mesangium und Epithelzelle, a) Oberfläche der peripheren GBM, b) Grenzfläche zwischen Mesangium und Kapillarlumen, c) Grenzfläche zwischen Mesangium und Epithelzelle

Bei Diabetikern schiebt sich das Mesangium zunehmend nach peripher in den subendothelialen Raum und verkleinert den Anteil der normalen peripheren Kapillaroberfläche (quantitative Bestimmung: $\frac{b}{a+b}$) und verlängert die Grenzfläche zwischen Mesangium und glomerulärer Basalmembran ($\frac{c}{a+c}$).

2.4. Chronische Hyperglykämie und/oder genetische Faktoren als Voraussetzungen der Nierenschädigung

Nach Pirart, einem belgischen Diabetologen, der zwischen 1947-1973 4400 Patienten in Hinblick auf Risikofaktoren für die Entwicklung dieser degenerativen Komplikation untersuchte, scheint die Güte der Blutzuckereinstellung das wichtigste Kriterium zur Verhütung von Retino- und Nephropathie zu sein. Demgegenüber würden alle anderen Faktoren, wie genetische Veranlagung, Adipositas, Geschlecht, oder Alter zu Beginn der Erkrankung nur eine untergeordnete Rolle spielen (115).

Unbestritten erscheint heute, daß die Mikroangiopathie erst in einem hyperglykämischen Stoffwechsellmilieu entstehen kann (9,30,47,66,96,115,134,141,142,161,167), wobei neben der metabolischen Einstellung auch die Dauer der diabetischen Erkrankung entscheidend ist (51,74,96,115,133,168).

Frühere Befunde wurden widerlegt, die bei Prädiabetikern, also Menschen mit normalem Stoffwechsellmilieu, verdickte Muskelkapillarmembranen beschrieben (131), und damit eine unabhängig von der diabetischen Stoffwechselstörung auftretende Mikroangiopathie postulierten. Diese Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Siperstein erwiesen sich zum einen als nicht haltbar, da sie experimentell nicht bestätigt werden konnten (8,133,142,167) und andererseits auch allen bisherigen klinischen Beobachtungen und Erfahrungen widersprachen (76,77,135,142). Sollte es in seltenen Fällen tatsächlich möglich gewesen sein eine minimal verdickte Basalmembran bei Prädiabetikern zu messen, könnte dies am ehesten der Schwierigkeit zugeschrieben werden, besonders bei Erwachsenen-diabetikern den Beginn der metabolischen Störung exakt zu datieren (74,134). Ferner stellte sich heraus,daß gerade bei Muskelpräparaten die Notwendigkeit besteht, zur Beurteilung der Basalmembrandicke, die Lokalisation der entnommenen Präparate zu berücksichtigen (70,96,167). Es wurde festgestellt, daß ein Zusammenhang zwischen einer Verdickung der Basalmembran und dem Lebensalter besteht (51), ausserdem scheint eine Basalmembranver-

dickung auch bei anderen Krankheitsprozessen, wie beispielsweise einer kongestiven Herzinsuffizienz, bei Zystischer Fibrose oder Kollagenosen nachweisbar zu sein (168), nicht zu vergessen, daß bei Gesunden sogar erhebliche Schwankungen in der glomerulären Basalmembrandicke gemessen werden können (69,168).

Für die grundlegende Bedeutung des Insulinmangels und seiner Folgen für die Pathogenese der Nephropathie gibt es weitere Hinweise: So wurden die typischen Gefäßveränderungen auch bei Patienten mit sekundärem Diabetes beobachtet (62,77,125,134,168), oder in Tierversuchen erfolgte eine gegenüber gesunden Tieren signifikant stärkere Basalmembranverdickung bei Hunden oder Ratten erst nach Diabetesinduktion durch β -zellzerstörende Medikamente wie Alloxan oder Streptozotocin (30,37,43,62,99,121,142).

Asterby wies in einer elektronenmikroskopischen Studie nach, daß eine Verdickung der Basalmembran von Nierenkapillaren erst nach einer Dauer des Diabetes mellitus von mindestens 1.5 Jahren zu erkennen ist, wobei Erwachsenenenddiabetiker von dieser Untersuchung aus den gerade dargestellten Gründen ausgeschlossen waren (96). Die Autorin fand eine Korrelation zwischen Basalmembrandicke und der Dauer des Diabetes, wie es auch in einer nachfolgenden Studie von Siess und seinen Kollegen bestätigt werden konnte (133).

Weitere Hinweise für die Schlüssigkeit der metabolischen Theorie lieferten diabetische Patienten, an denen eine Nierentransplantation vorgenommen worden war. Nach einiger Zeit traten glomerulosklerosetypische Veränderungen an vas afferens und efferens im histologischen Bild auf (64). Den Einfluß der guten Stoffwechselführung auf morphologische Nierenveränderungen bei Diabetikern mit Nierentransplantat beschreibt in einer kürzlich veröffentlichten Studie Friedman, demzufolge Najarian und seine Arbeitsgruppe nach erfolgter Pankreastransplantation und nachfolgender Stoffwechsellnormalisierung eine Rückbildung erneut aufgetretener Glomerulosklerose im Nierentransplantat diabetischer Patienten beobachtet hätte (34). Alle diese Befunde deuten also auf einen ursächlichen Zusammenhang zwischen dem

gestörten Stoffwechsellmilieu und den nachfolgend auftretenden schweren Veränderungen an der Niere.

Demgegenüber führen Vertreter der Theorie einer genetischen Implikation bei der Entstehung der Nephropathie an, daß die Störung der Glukosetoleranz und das klinische Syndrom Diabetes mellitus als Folge einer Reihe sehr unterschiedlicher Krankheiten auftreten könne, wobei aufgrund der genetischen Heterogenität dieser Erkrankungen auch an eine genetisch vorgegebene unterschiedliche Prädisposition für die Nephropathie zu denken sei (125). Möglicherweise gibt es genetische Erkrankungen mit Glukosetoleranzstörung, bei denen keine Nephropathie als Spätfolge auftritt (125). Als ein Beispiel nennen Rimoin und Rotter den isolierten Wachstumshormonmangel mit sekundärer Insulinopenie. Da dem Somatotropin jedoch eine direkt gefäßschädigende Wirkung zugeschrieben wurde (62,s.u.), könnte diesem Hormonmangel hier sogar eine gewisse Schutzfunktion vor einer Kapillarschädigung zukommen. Daher erscheint dieser Fall nicht unbedingt überzeugend als Beleg für eine genetische Hypothese.

Unterschiede in der Häufigkeit und im klinischen Verlauf der Spätkomplikationen bei Typ-I und Typ-II Diabetikern könnten die Theorie der genetischen Determiniertheit jedoch bestätigen, da beide Formen des Diabetes mellitus als genetisch verschiedene Krankheitsbilder angesehen werden, und die Nephropathie für beide Krankheitsbilder eine unterschiedliche Bedeutung besitzt. Auf der Suche nach Indizien für eine genetische Implikation bei der Pathogenese der Nephropathie wurde beispielsweise bei Typ-I Diabetikern eine Assoziation mit bestimmten HLA-Antigenen beschrieben (125). Bisher stand besonders die Erforschung der Assoziation von HLA-Antigenen mit dem Auftreten der diabetischen Retinopathie im Vordergrund. Barbosa, der eine vergleichbare Studie bei Patienten mit Nephropathie durchgeführt hatte, konnte allerdings noch keine spezifischen Hinweise entdecken (1). Nach Virella könnte eine genetische, HLA-assoziierte Vermehrung löslicher Immunkomplexe bei Diabetikern in Zusammenhang mit vaskulären

Störungen der Mikrozirkulation stehen (155). Die pathogenetische Bedeutung solcher, gegen Insulin gerichteter Immunkomplexe wird seiner Meinung nach durch das Auftreten hoher Konzentrationen löslicher Immunkomplexe bei klinischen Symptomen der Mikroangiopathie hervorgehoben.

Einen spezifischen genetischen Marker für Spätkomplikationen bei Typ-II Diabetikern glaubte man im CPAF-Phänomen gefunden zu haben (1a,125,158). Hierbei wurde eine nach Alkoholkonsum auftretende Gesichtsrötung bei Patienten, die mit dem oralen Antidiabetikum Chlorpropamid eingestellt waren (CPAF=Chlorpropamide primed alcohol induced flushing), als Indiz für "Schutzfaktoren" vor Spätkomplikationen gewertet, da ein Ausbleiben dieser Nebenwirkung von Chlorpropamid angeblich mit einer höheren Inzidenz und Schwere der Komplikationen einherging (1a,125,158). Zum Teil verliefen Expositionstests mit Chlorpropamid jedoch nicht eindeutig (58). Insgesamt betrachtet muß die Bewertung dieses Phänomens daher wohl eher zurückhaltend getroffen werden, denn die Reaktion tritt auch als Nebenwirkung bei anderen Sulfonylharnstoffderivaten auf, ist also weder spezifisch, noch scheint eine klare Unterscheidung CPAF-positiver und -negativer Reaktionen möglich zu sein (58).

Ein Nachweis genetischer Faktoren für die Pathogenese der Nephropathie steht somit weiterhin aus.

Es bleibt jedoch festzuhalten, daß sehr viele diabetische Patienten nie in ihrem Krankheitsverlauf eine Nephropathie erleiden. Bisher ist noch ungeklärt, warum trotz augenscheinlich gleich guter Stoffwechseleinstellung, manche Menschen sozusagen prädestiniert erscheinen, diese schwere Spätkomplikation zu entwickeln (23). Ungeachtet mancher Erfolge durch Optimierung der Therapie ist es bisher noch nicht gelungen zu beweisen, daß alle Störungen durch Beseitigung der Folgen des Insulinmangels abzuwenden sind. Ein Grund hierfür könnte jedoch sein, daß selbst mit der Anwendung von Insulindosiergeräten oder nach Inselzelltrans-

plantation noch keine dauerhafte Normalisierung des Stoffwechsels zu erzielen war (vgl.157).

Es liegt sogar eine Beobachtung von Mauer und seinen Kollegen vor, wonach 6-10 Jahre nach einer Nierentransplantation, trotz gleich guter Stoffwechseleinstellung, manche Patienten nur geringe oder keine mesangialen Veränderungen zeigten, während bei anderen fortgeschrittene Schädigungen zu finden waren (68). Selbst wenn bei diesem Befund der Schluß naheliegt, daß die Empfindlichkeit des Nierengewebes in Bezug auf die diabetische Spätschädigung doch genetisch vorgegeben sei, stünde dies nicht im Widerspruch zur metabolischen Theorie und damit zur Forderung nach der bestmöglichen Stoffwechselkontrolle. Gerade bei den funktionellen Veränderungen im Frühstadium des Diabetes hat sich gezeigt, daß diese durch exakte Insulintherapie weitgehend reversibel sind, oder wie oben ausgeführt wurde, die morphologischen Veränderungen bei guter Einstellung geringer ausgeprägt sind als bei unzureichender Therapie. Dies zeigt sich auch im Tierexperiment: Eine Basalmembranverdickung in Rattenglomerula, wie sie bei diabetischen Tieren mit unzureichender oder ohne Insulintherapie zu beobachten ist, läßt sich bei optimaler Therapie sogar nach einem Zeitraum von 6 Monaten vermeiden (120), die einmal akkumulierte Basalmembran hat sich aber auch 4 Wochen nach Inselzelltransplantation bei den Tieren nicht mehr zurückgebildet (37,67). So wird vermutet, daß schon wenige Tage mit schlechter Stoffwechselführung beim Menschen ausreichen, um glomeruläre Basalmembranveränderungen zu induzieren, die wahrscheinlich auch nach einem langen Zeitraum möglichst optimaler Therapie nicht mehr rückgängig gemacht werden können (37). Multiple renale Veränderungen sind häufig schon bei klinischer Manifestation des Diabetes mellitus festzustellen; möglicherweise sind die in diesem Stadium vergrößerte Niere und damit verbundene funktionelle Phänomene mit der Entwicklung wenigstens eines Teils der späten diabetischen Glomerulosklerose verbunden (92).

Wichtige Fragen der kausalen Beziehung zwischen funktionellen und strukturellen Veränderungen und ihre pathogenetische Bedeutung stehen noch offen (100). Der derzeitige Eindruck einer sozu-

sagen "schicksalhaften Disposition" (23), muß durch Aufklärung der Ätiologie der Nephropathie entkräftet werden. Zur richtigen Erkennung von Risikofaktoren und zur Vorkehrung möglicher Präventivmaßnahmen gehören genaue Kenntnisse der Pathogenese der Mikroangiopathie. Der Krankheitsverlauf der diabetischen Glomerulosklerose erscheint derzeit als ein sehr komplexer Vorgang mit multifaktorieller Genese, dessen Erforschung bei weitem noch nicht abgeschlossen ist.

2.5. Folgen der diabetischen Stoffwechsellage und mögliche Konsequenzen für die Entwicklung der Mikroangiopathie

Bevor die Veränderungen an der Niere selbst näher beschrieben werden, seien hier zunächst kurz einige Faktoren aufgezählt, die ganz allgemein Einfluß auf die Progression oder das Entstehen der Mikroangiopathie nehmen könnten, ohne bereits im Detail in ihrer genauen Auswirkung auf die Niere nachgewiesen worden zu sein (s. Abb. 4).

Darunter fallen auffällige Befunde im Gerinnungssystem, rheologische Veränderungen, insulinunabhängige Wege der Glukoseverwertung mit möglicher Beeinträchtigung der Zellfunktion, hormonelle und eventuell immunologische Veränderungen (47,62,70, 135,136,166). Die Kapillaren sind hierdurch einer chronischen Belastung ausgesetzt, auf welche der Organismus in einem langsam fortschreitenden Prozeß der Adaptation und Degeneration reagiert (70,168).

So werden Störungen im Gerinnungssystem und Veränderungen in den Fließeigenschaften des Blutes beobachtet, die für die Pathogenese der Mikroangiopathie vielleicht eine wichtige Rolle spielen (ausführliche Darstellung in 136). Eine längere Ausführung hierzu ginge über den Rahmen des Themas dieser Arbeit hinaus. Zusammenfassend sei an dieser Stelle gesagt, daß im Stadium der fortgeschrittenen Retino- und Nephropathie eine erhöhte Mikrothromboseneigung besteht, die sich durch Kapillarobliteration bei verminderter fibrinolytischer Aktivität im Plasma manifestiert.

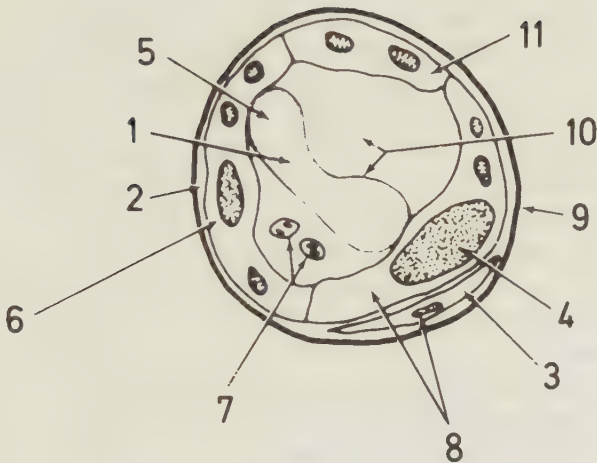


Abb.4: Folgen des Diabetes mellitus für das Kapillarsystem
(nach 70)

1. Erythrozyt, 2. Basalmembran, 3. Pericyt, 4. Endothelzelle,
5. Beeinträchtigung des O_2 -Transports (vermehrtes $Hb A_{1c}$ verminderte 2,3-DPG Spiegel)
6. Veränderte Zellfunktion (verminderte Phagozytose, schnellere Zellalterung, veränderte Lymphozyten, vermehrte lysosomale Enzyme)
7. gestörte Hämostase (vermehrte Thrombozytenaggregation)
8. Veränderung im Zellmetabolismus (Sorbitol-weg)
9. veränderte Basalmembran (Verdickung und Veränderung der biochemischen Zusammensetzung)
10. veränderte Fließeigenschaften des Blutes (erhöhte Blutviskosität und Erythrozytenaggregation)
11. Einflüsse veränderter Hormonkonzentrationen (Wachstumshormon, Glukagon)

Auf eine gestörte Homöostase des Gerinnungssystems verweisen Veränderungen an den Thrombozyten selbst, ebenso wie veränderte Konzentrationen verschiedener Plasmafaktoren und Störungen im Prostaglandinstoffwechsel der Thrombozyten und der Gefäßwand. Besonders bei entgleister Stoffwechsellage, bei schon lange bestehendem Diabetes, sowie bei sekundären Folgeschäden werden rheologische Veränderungen beobachtet, wie etwa eine Erhöhung der Plasmaviskosität, vermehrte Erythrozytenaggregation oder eine verminderte Erythrozytenverformbarkeit. Als Folgen all dieser Störungen könnten langfristig hypoxische Schädigungen an der Gefäßwand auftreten, die Veränderungen der normalen Zellintegrität zur Folge haben könnten (104).

Eine verminderte Sauerstoffabgabe im Gewebe, und somit auch eine hypoxische Schädigung, bewirkt möglicherweise die erhöhte Sauerstoffaffinität des glykosylierten Hämoglobin A, welches bei erhöhten Serumkonzentrationen der Glukose vermehrt im Blut diabetischer Patienten gefunden wird. Zusätzlich erschwert wird bei Diabetikern die Sauerstoffabgabe ins Gewebe auch durch einen verminderten 2,3,-Diphosphoglycerat-Spiegel der Erythrozyten, wie er bei starken Blutzuckerschwankungen gemessen wird. Neben einer direkten hypoxischen Schädigung der Kapillarwände (47,70,142), könnte auch die Gewebepfusion als autoregulative Antwort auf die relative Hypoxie zunehmen. So werden in der "Hypoxischen Theorie" auch hämodynamische Folgen eines gestörten Glukosemetabolismus als schädliche Faktoren für die Gefäßwand angesehen (25).

Erhöhte Glukosespiegel im Serum führen zur nicht-enzymatischen Glykosylierung einer großen Anzahl verschiedener Proteine (166). Daraus ergeben sich vielfältige Konsequenzen in Hinblick auf die Funktion und Verstoffwechselung einer großen Anzahl von Proteinen. Hierauf wird im Zusammenhang mit der Beschreibung morphologischer Veränderungen an der Niere noch genauer einzugehen sein.

Neben der nicht-enzymatischen Glycosylierung gibt es einen weiteren alternativen Weg der Glukoseverwertung: Bei Glukoseüberangebot im Insulinmangelzustand, bildet das Enzym Aldosereduktase in vielen Zellen vermehrt Sorbit aus Glukose. Da Sorbit nicht aus den Zellen entweichen kann, mag die Ursache einer zellulären Funktionseinbuße unter Umständen in der osmotischen Anschwellung dieser Zellen begründet liegen (47,77,166). Die Aldosereduktase wurde bisher in Linse, peripherem Nerv und Aorta nachgewiesen; sie hat vor allem Bedeutung für die Entstehung der diabetischen Polyneuropathie und für die diabetische Katarakt. In den Endothelzellen der Aorta spielt sie vielleicht eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Makroangiopathie (47,166). Allerdings fehlt bislang der Nachweis für dieses Enzym in der Niere, und auch die potentielle Auswirkung einer Sorbitakkumulation in der kapillaren Gefäßwand bleibt auf die morphologischen Veränderungen der Niere noch nachzuweisen (47,77,166).

Schließlich werden hormonelle Veränderungen, die der Insulinmangel nach sich zieht, in das pathogenetische Konzept einbezogen:

Ein erhöhter Serumspiegel von Wachstumshormon bei Diabetikern und die Beobachtung einer signifikanten Besserung der proliferierenden Retinopathie nach Hypophysektomie führten zur "Wachstumshormon Hypothese" (62). Daß Patienten mit Akromegalie und damit erhöhtem Somatotropinspiegel in der Regel keine Basalmembranverdickung aufweisen (75), wurde auf eine gewisse Schutzfunktion eines in diesem Fall gleichzeitig erhöhten Insulinspiegels zurückgeführt (167), und sollte somit diese Theorie nicht entkräften. Dem Wachstumshormon wurde eine direkte gefäßschädigende Wirkung angelastet, denn es war ferner zu beobachten, daß die Patienten nach Hypophysektomie und Linderung der Retinopathie keine verbesserten Stoffwechselwerte aufwiesen (62). Daneben wurde ein Einfluß des Somatotropins auf die akute Nierenhypertrophie zu Beginn der diabetischen Erkrankung diskutiert, und ein Effekt des Hormonspiegels auf die funktionellen Parameter beobachtet (82).

Die Hypophysektomie wird heute bei Diabetikern nur noch selten durchgeführt, da eine so schwerwiegende Beeinträchtigung durch die nachfolgende, künstlich induzierte, hypophysäre Insuffizienz den Eingriff kaum mehr rechtfertigt. Auch eine klinische Anwendung des Somatostasin, des Gegenspielers des Wachstumshormons, ist mit so großen Nebenwirkungen verbunden, daß eine allgemeine Therapie damit bisher nicht in Frage kommt (70).

Eine potentielle Bedeutung weiterer Hormone für die Entstehung der Mikroangiopathie, wie Glukagon, Cortisol, ACTH, Adrenalin oder Renin und Angiotensin wird gerade in Hinblick auf eine Beeinflussung der Gefäßreaktivität immer wieder diskutiert (29, 47, 90, 139). Eine mögliche pathogenetische Rolle dieser Hormone, sei es in Bezug auf die akute Nierenhypertrophie, oder sei es in Hinblick auf die gesteigerte renale Funktion und die funktionelle Proteinurie in der Frühphase der Erkrankung (s.u.), muß aber noch näher untersucht werden.

2.6. Funktionelle und morphologische Veränderungen der Niere in ihrer pathogenetischen Bedeutung für die Nephropathie

Wie schon aus dem bisher Gesagten hervorgeht, ist die eigentliche Ursache der Nephropathie unbekannt. Im Verlauf ihrer Entwicklung treten funktionelle wie strukturelle Veränderungen an der Niere auf, die sowohl spezifisch als auch unspezifisch für das Krankheitsbild sein können. Als Beispiel eines wesentlichen funktionellen Parameters ist die Erhöhung der Glomerulären Filtrationsrate hervorzuheben. Sie ist als Folge eines bisher unbekannten Prozesses zwar nicht ursächlich für die Glomerulosklerose verantwortlich, trägt aber sicher wesentlich zur Progression der morphologischen Schädigung bei.

Ursache und Wirkung sind im Rahmen dieses komplexen Prozesses schwer zu durchschauen. Daher soll hier zunächst eine detaillierte Beschreibung der einzelnen beobachtbaren funktionellen Phänomene erfolgen, ohne daß daraus freilich unmittelbar ihr Stellen-

wert für die Pathogenese hergeleitet werden kann.

Im Anschluß daran sollen die strukturellen Veränderungen in ihren Einzelheiten beschrieben werden.

2.6.1. Funktionelle Veränderungen

Vor dem Beginn der Therapie werden bei frisch diagnostizierten Diabetikern Veränderungen der Nierenfunktion gemessen, die auch mit der Behandlung der Hyperglykämie nur teilweise zu normalisieren sind. Clearance-Untersuchungen ergeben eine gesteigerte Glomeruläre Filtrationsrate sowie unter Umständen einen erhöhten Renalen Plasmafluß. Mit empfindlichen Proteinnachweismethoden gelingt es bisweilen sogar eine erhöhte Mikroalbuminurie bei diesen Patienten aufzuzeigen (12,15,80,81,92,100,146). Unter optimaler Therapie macht sich ein signifikanter Abfall der erhöhten Glomerulären Filtrationsrate schon nach ungefähr einer Woche bemerkbar (14,37). Jedoch kann man bei Diabetikern trotzdem stets eine gegenüber Gesunden erhöhte Glomeruläre Filtrationsrate bis zum Auftreten der klinischen Proteinurie nachweisen (83,93,163). Diese Filtrationserhöhung dient letztendlich wohl als Kompensationsmechanismus zur Wiederherstellung der metabolischen Homöostase im diabetischen Stoffwechsell milieu. Klinisch kündigt sich erst das unaufhaltsame terminale Stadium der renalen Zerstörung in einem zunehmenden Abfall der Glomerulären Filtrationsrate an. Gleichzeitig erfolgt ein massiver Anstieg der Proteinurie. Eine zwar individuell unterschiedliche, aber mit der Zeit kontinuierlich fortschreitende Filtrationseinschränkung kennzeichnet die progrediente Niereninsuffizienz (157,158). Der Krankheitsverlauf läßt sich in diesem Stadium nicht mehr durch eine Verbesserung der Stoffwechseleinstellung beeinflussen (153).

Am Rande sei als Beispiel für die Bedeutung funktioneller Faktoren im Spätstadium der Nephropathie erwähnt, daß inzwischen verschiedene Untersuchungen vorliegen, die noch den therapeutischen Effekt einer antihypertensiven Therapie in diesem Stadium belegen (s.o.). Der Mechanismus wie die Regulierung des Blut-

drucks bei fortgeschrittener Nephropathie den Krankheitsverlauf günstig beeinflusst, ist nicht genau bekannt (109). Möglicherweise setzt eine verminderte Anzahl noch funktionierender Nephrone einen sich selbst unterhaltenden Kreislauf in Gang, wobei hämodynamische Kompensationsmechanismen in immer weiter fortschreitender struktureller Zerstörung münden (68,154), so daß die Blutdrucksenkung zu einer Abschwächung dieses Prozesses führen könnte, ohne jedoch die renale Dekompensation abzuwenden.

Für den Anfang des Krankheitsverlaufes wird dagegen vermutet, daß eine erhöhte Glomeruläre Filtrationsrate, über einen erhöhten transkapillären Druckgradienten auch die Proteindurchlässigkeit der glomerulären Membran verstärkt (92,154). Funktionellen Parametern kommt also auch für Erklärungsversuche zur vermehrten Mikroalbuminurie bei Diabetikern in frühen Stadien der Erkrankung ein bedeutender Stellenwert zu.

Wichtige funktionelle Faktoren, die die Glomeruläre Filtrationsrate bestimmen, sind der Renale Plasmafluß, der transkapilläre Druckgradient und der Ultrafiltrationskoeffizient. Die Kenntnis der pathogenetischen Rolle der einzelnen funktionellen Parameter scheint die Voraussetzung zum Verständnis der Beziehungen zwischen strukturellen und funktionellen Veränderungen in der Entwicklung der Nephropathie zu sein. Viele Forscher haben sich folglich mit der Frage auseinandergesetzt, auf welche Weise Veränderungen der Glomerulären Filtrationsrate entstehen und inwieweit die einzelnen Größen auch jeweils für sich genommen eine schädliche Wirkung auf die Niere ausüben.

Bevor diese Veränderungen im Einzelnen dargestellt werden, seien zum Verständnis zweckmäßigerweise einige grundlegende Begriffe der Nierenphysiologie kurz rekapituliert (nach 5,127,168):

- Für die Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) gilt, daß sie abhängig ist vom effektiven Filtrationsdruck (FD_{eff}) und dem Filtrationskoeffizienten (k_f):

$$GFR = FD_{eff} \cdot k_f \quad (1)$$

- Der effektive Filtrationsdruck (FD_{eff}) setzt sich zusammen aus der hydrostatischen Druckdifferenz zwischen Kapillarlumen und Bowmanscher Kapsel ($D_{Kap} - D_{Bow}$), vermindert um den mittleren kolloidosmotischen Druck (D_{KOD}):

$$FD_{eff} = D_{Kap} - D_{Bow} - D_{KOD} \quad (2)$$

Es sei angemerkt, daß die oben angeführte Formel (1) zur Beschreibung der Glomerulären Filtrationsrate beim Menschen nur von eingeschränktem Nutzen ist, da beim Menschen keine direkten glomerulären intrakapillären Druckmessungen möglich sind. Nur in tiereperimentellen Mikropunktionsstudien können solche Daten direkt gewonnen werden und in Analogie zu den Verhältnissen in der menschlichen Niere interpretiert werden.

- Der Filtrationskoeffizient entspricht der Leitfähigkeit der gesamten Glomerulummembran für den Wasserfluß (= hydraulische Leitfähigkeit). Er hängt vornehmlich von der Geometrie und Dichte der Poren sowie der Gesamtfläche der Membran ab.

- Wenn bei der Filtration nicht nur die Auftrennung grober Partikel sondern auch die von gelösten Molekülen stattfindet, spricht man von Ultrafiltration. Bei der glomerulären Filtration also der Primärharnbildung, läuft ein solcher Prozess ab. Entsprechend handelt es sich bei den reaktionsbestimmenden Parametern hier um einen effektiven Ultrafiltrationsdruck und Ultrafiltrationskoeffizienten. Die Ultrafiltration ist gleicherweise sowohl abhängig vom glomerulären Plasmafluß, von der mittleren hydrostatischen Druckdifferenz und dem Ultrafiltrationskoeffizienten.

- Ein Filtrationsgleichgewicht tritt ein, wenn die Ultrafiltration sistiert, noch bevor der Plasmastrom das Ende der glomerulären Kapillare erreicht hat, somit in den Kapillaren der kolloidosmotische Druck mit dem transkapillären hydrostatischen Druck gleichzusetzen ist.

- Als Filtrationsfraktion (FF) wird die Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) bezogen auf den Renalen Plasmafluß (RPF) bezeichnet:

$$FF = \frac{GFR}{RPF} \quad (3)$$

Im Einzelnen sind nun der Renale Plasmafluß, der transkapilläre Druckgradient und der Ultrafiltrationskoeffizient in ihrer Auswirkung auf die Glomeruläre Filtrationsrate einer genaueren Betrachtung zu unterziehen:

2.6.1.1. Der renale Plasmafluß

Bestimmungen des Renalen Plasmaflusses bei Diabetikern führten häufig zu widersprüchlichen Ergebnissen. Es hat nicht den Anschein, als sei der Renale Plasmafluß die hauptverantwortliche Ursache der verstärkten Glomerulären Filtrationsrate. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß sich eine Steigerung des Renalen Plasmaflusses in Abhängigkeit von der Stoffwechseleinstellung dennoch per se schädlich auf die Niere auswirkt.

Eine akute Nierenhypertrophie zu Beginn der diabetischen Erkrankung wurde verschiedentlich als stimulierender Faktor für den Anstieg des Renalen Plasmaflusses bezeichnet (16,81,82), aber, bezogen auf das Nierengewicht ergeben sich selbst bei erhöhtem Plasmafluß bei Diabetikern mit akuter Nierenhypertrophie niedrigere Werte als bei Gesunden (13,89,117). Dies legt nahe, daß, wenn die Steigerung des Renalen Plasmaflusses geringer ausfällt als der Anstieg der Glomerulären Filtrationsrate, ersterer nicht als Hauptregulator der erhöhten Glomerulären Filtrationsrate gelten kann (89).

Während also in manchen Arbeiten ein proportional zur Glomerulären Filtrationsrate ansteigender Renaler Plasmafluß gemessen wurde (13,15,16,81,128), liegen andere Studien vor, die normale Werte (83,104), oder sogar einen verminderten Renalen Plasmafluß vorfanden (152,162).

Hierbei spielen möglicherweise auch methodische Fehler eine Rolle, etwa die unvollständige Blasenentleerung bei zu geringer Diurese, wenn also nicht das gesamte Urinvolumen in die Clearance-

Berechnung eingeht, oder eine mögliche Retention von Hippuran bei Volumenexpansion durch die Infusion während der Sammelperiode auftritt (15,145). Beispielsweise soll auch die Körperposition während der Messung eine Rolle spielen (89). Ferner könnten sich die unterschiedlichen Ergebnisse natürlich aus der unterschiedlichen metabolischen Einstellung während der Clearance-Periode erklären (92).

Aus Tierversuchen geht hervor, daß hier vor allem eine Erhöhung der renalen Durchblutung den Anstieg der Glomerulären Filtrationsrate verursacht (5). Brenner und Mitarbeiter machen für diesen Effekt die Verhinderung des Anstiegs des kolloidosmotischen Drucks bei starker Zunahme des renalen Plasmaflusses verantwortlich. Somit kommt es im Verlauf der Kapillarschlingen zu keinem Sistieren der Filtration, der transkapilläre Druckgradient bleibt während der gesamten Passage durch das Glomerulum bestehen. Die Filtrationsrate im einzelnen Glomerulum ist proportional abhängig von der Steigerung des glomerulären Durchflusses bzw. der davon abhängigen Variation des mittleren Ultrafiltrationsdruckes (5). Nur besteht normalerweise bei den hier untersuchten Ratten in der Niere ein Filtrationsgleichgewicht, weswegen es nicht angebracht erscheint, von einem, bezogen auf die menschliche Nierenfunktion übertragbarem Modell auszugehen:

Beim Menschen stellt sich wahrscheinlich kein Filtrationsgleichgewicht ein (86,127,168), und in diesem Fall dürfte zwischen renalem Plasmafluß und Glomerulärer Filtrationsrate auch keine Korrelation erwartet werden.

Folgende Befunde sprechen gegen ein Filtrationsgleichgewicht beim Menschen: Der Glomeruläre Plasmafluß ist in der menschlichen Niere sehr hoch, vergleichbar in etwa mit den Verhältnissen in der Hundeniere, in der kein Filtrationsequilibrium zu messen ist (127,169). Daneben hat beim Menschen eine große Zunahme des Plasmaflusses, induziert durch Albumininfusion, keinen Einfluß auf eine Steigerung der Glomerulären Filtrationsrate (169). Eine vom Renalen Plasmafluß unabhängige Glomeruläre Filtrationsrate

macht es gerade wahrscheinlich, daß in der menschlichen Niere ein Filtrationsdisequilibrium herrscht, also der transkapilläre Druckgradient bis zum Kapillarende immer den kolloidosmotischen Druck übersteigt (168). Die Annahme eines Filtrationsungleichgewichts in der menschlichen Niere bietet somit eine plausible Erklärung für den Befund einer vom Renalen Plasmafluß unabhängigen Glomerulären Filtrationsrate. Jedoch sind andere Mechanismen denkbar, wie eine Erhöhung der Nierendurchblutung bei Diabetikern zustande kommen könnte: Einerseits könnte dies möglicherweise über den in der "Hypoxischen Theorie" postulierten Mechanismus geschehen, oder über die Einwirkung veränderter Hormonkonzentrationen bei schlechter Stoffwechselführung (s.o.); wobei allerdings eine unzureichende Sauerstoffversorgung der Nierenkapillaren, bei der normalerweise sehr hohen Durchblutung der Niere, als weniger wahrscheinlich erscheint. Daß die akute Stoffwechsellage die Nierenfunktion beeinflußt, zeigt die Abhängigkeit der Bestimmung des Renalen Plasmaflusses von der Stoffwechsellage während der Clearance-Periode (92). Auch Viberti spricht davon, daß die hämodynamischen Determinanten der Proteinurie (eine erhöhte Glomeruläre Filtrationsrate, induziert durch einen Anstieg des Renalen Plasmaflusses und durch einen gesteigerten transkapillären Druckgradienten) von der metabolischen Einstellung abhängig seien (153). An die pathogenetische Bedeutung einer vermehrten renalen Durchblutung wäre somit durchaus in der frühen Phase der Erkrankung und bei stärkeren Schwankungen der Stoffwechseleinstellung zu denken.

2.6.1.2. Der transkapilläre Druckgradient

Inzwischen gibt es Hinweise dafür, daß in der Niere diabetischer Patienten möglicherweise nicht nur der transkapilläre Druckgradient erhöht ist, sondern darüber hinaus starke intrakapilläre Druckschwankungen bei relativ konstant erhöhter Glomerulärer Filtrationsrate vorkommen, die natürlich erhebliche

Folgen für die morphologische Integrität des Nierengewebes haben könnten.

Da bei Diabetikern eine hohe Filtrationsfraktion gemessen wird, könnte gerade ein erhöhter Filtrationsdruck in den glomerulären Kapillaren die Glomeruläre Filtrationsrate maßgeblich bestimmen (81). Besonders der Nachweis eines erhöhten transkapillären Drucks in Mikropunktionsstudien bei Ratten mit leichter diabetischer Störung wurde als wichtiges Indiz dafür angesehen, daß auch beim Menschen dieser Faktor als eine Ursache der funktionellen Nierenveränderungen zu werten sei (44,45,48,49). Ein erhöhter Kapillardruck kommt über eine Reduktion des Widerstands im *vas afferens* und eine Erhöhung des Widerstands im *vas efferens* zustande (44). Über den Mechanismus, wie es zu einer solchen Druckerhöhung kommen könnte, seien hier zwei unterschiedliche Vorstellungen näher ausgeführt:

Theoretische Überlegungen unter der Prämisse, daß in der menschlichen Niere ein Filtrationsgleichgewicht herrsche, führten zu dem Schluß, daß allein eine Zunahme des transkapillären Drucks einen Anstieg der Glomerulären Filtrationsrate gewährleiste (148, 163), denn eine Verstärkung der hydraulischen Leitfähigkeit oder eine Vergrößerung der Filtrationsoberfläche würden ja unter dieser Voraussetzung keine Veränderung der Glomerulären Filtrationsrate mehr nach sich ziehen. Wenn aber, wie gerade dargelegt, in der menschlichen Niere kaum mit einem Filtrationsgleichgewicht zu rechnen ist, erscheint es nicht sehr wahrscheinlich, daß die Glomeruläre Filtrationsrate ausschließlich durch den transglomerulären Druckgradienten bestimmt wird.

Für starke glomeruläre intrakapilläre Druckschwankungen bei der diabetischen Erkrankung sprechen allerdings neuere Befunde, die eine Abhängigkeit der glomerulären Hämodynamik von der tubulären Reabsorptionsrate postulieren (26,27,132). Eine relativ ausführliche Darstellung des Modells der tubulo-glomerulären Balance an dieser Stelle erscheint gerechtfertigt, da sie deutlich macht, wie die Niere; als Integrationsorgan zur Gewährleistung eines konstanten "Inneren Milieus", sich während längerfristiger Ein-

wirkung einer metabolischen Entgleisung durch einen im Prinzip sinnvollen funktionellen Kompensationsmechanismus organspezifisch selbst zu schädigen vermag:

Nach der bisherigen Auffassung paßt sich bei erhöhter Glomerulärer Filtrationsrate die proximale tubuläre Reabsorptionsrate automatisch den neuen Erfordernissen an, was zu einer tubulären Funktionssteigerung führt (127). Mit diesem "klassischen" Konzept in Einklang befinden sich die Befunde für die Natrium- und Glukosereabsorption. Bei Diabetikern ist die maximale tubuläre Transportkapazität dieser Stoffe in Korrelation zur Glomerulären Filtrationsrate erhöht (55,27). Die maximale tubuläre Transportkapazität für Phosphat dagegen ist bei diabetischen Kindern vermindert und paßt, bei erhöhter Glomerulärer Filtrationsrate nicht mehr in das ursprüngliche Konzept der glomerulo-tubulären Balance (27). Als Ursache der gestörten Phosphatreabsorption waren mögliche hormonelle Veränderungen durch Kontrolle der Serumwerte von Wachstumshormon und Parathormon ausgeschlossen worden. Da der Phosphatspiegel im Serum diabetischer Kinder trotzdem fast normal und damit viel höher als erwartet ausfiel, wurde postuliert, daß zur Aufrechterhaltung eines normalen Serum-Phosphatspiegels eine Steigerung der Glomerulären Filtrationsrate induziert werde, damit absolut gesehen, eine größere Menge Phosphat von den Tubuli reabsorbiert werden könne, also die Tubuli, um ihr Phosphatangebot zu steigern, die Glomeruläre Filtrationsrate kontrollierten (27).

Im Einzelnen sähe der Mechanismus der tubulo-glomerulären Balance dann folgendermaßen aus:

Durch die vermehrte tubuläre Glukose- und Natriumreabsorption erhöht sich zum einen die Glomeruläre Filtrationsrate infolge des abfallenden proximalen intratubulären Drucks, andererseits aktiviert dieser das Renin-Angiotensin-System, wodurch sich der efferente arteriöle Widerstand erhöht und afferent eine Widerstandssenkung sowie ein starkes Anwachsen des Ultrafiltrationsdruckes bewirkt wird. Hierdurch erhöht sich gleichfalls die Glomeruläre Filtrationsrate, der intratubuläre Druck steigt an

und die hormonelle Stimulation der Gefäßwiderstände wird über einen negativen Rückkopplungsmechanismus gehemmt, wodurch der Kreislauf der Gegenregulation von neuem beginnt, sobald der intratubuläre Druck wieder absinkt. Bei einer relativ konstant erhöhten Glomerulären Filtrationsrate kommt es also zu erheblichen transglomerulären Druckschwankungen.

Sowohl die vermehrte Rückresorption von Glukose bei mäßiger Hyperglykämie zur Vermeidung einer exzessiven Glukosurie, wie auch die Konstanthaltung des Serumphosphatwertes über den Mechanismus einer gesteigerten glomerulären Filtration zeigen, wie die Niere eigendynamisch versucht, ein normales "Inneres Milieu" aufrecht zu erhalten. Ebenso spielt die Glomeruläre Filtrationsrate für die Homöostase des Extrazellularraumes eine wichtige Rolle als Gegenregulator zu einem gestörten Metabolismus. Bezogen auf das Extrazellulärvolumen zeigen Diabetiker im Vergleich zu Gesunden eine gesteigerte, also effektivere Filtrationsrate (6). Um diese vermehrte Leistung im diabetischen Zustand erbringen zu können, ist die Steigerung der transkapillären Druckdifferenz ein wichtiger Parameter. Ein Hinweis für die Bedeutung dieses Wertes ergibt sich, wie schon erwähnt, aus dem direkten Nachweis eines erhöhten intraglomerulären Kapillardrucks bei diabetischen Ratten (44,45). Die Wirkung der Drucksteigerung auf die Niere wurde folglich in einigen tierexperimentellen Studien zur Klärung der Ätiologie der diabetischen Nephropathie untersucht. Auf die Ergebnisse dieser Versuche zur Induktion einer renalen Hypertonie bei diabetischen Ratten wird später bei der Beschreibung morphologischer Veränderungen noch einzugehen sein (s.u.). An dieser Stelle sei nur kurz vorweggenommen, daß eine intrakapilläre Drucksteigerung nicht nur im Tierexperiment die Progression morphologischer Veränderungen beschleunigen kann. Jedoch stellt diese Größe für sich genommen natürlich nicht die Ursache der renalen diabetischen Schädigung dar.

2.6.1.3. Der Ultrafiltrationskoeffizient

Mogensen und Andersen wiesen erstmals einen kausalen Zusammenhang zwischen erhöhter Glomerulärer Filtrationsrate und akuter Nierenvergrößerung bei Patienten mit kurzer Diabetesdauer nach und stellten fest, daß eine gesteigerte Funktion in Korrelation zur Nierenparenchymvermehrung auftritt (81). Unter optimaler Insulintherapie haben nach drei Monaten Nierengröße und Glomeruläre Filtrationsrate im gleichen Verhältnis wieder auf fast normale Werte abgenommen (48,82,85). Bezogen auf das Nierengewicht ergeben sich im Stadium der frühen Hypertrophie für die Filtrationsrate bei Gesunden und Diabetikern vergleichbare Werte (16,81,83,89). Also wurde eine Funktionssteigerung in diesem Stadium der diabetischen Erkrankung auch der vergrößerten glomerulären Filtrationsoberfläche und damit dem Ultrafiltrationskoeffizienten angelastet, besonders nachdem histologische Untersuchungen in diesem Krankheitsstadium tatsächlich eine vergrößerte Kapillaroberfläche nachgewiesen hatten (16,59,81,85). Ein signifikanter Abfall der erhöhten Glomerulären Filtrationsrate kann jedoch unter strenger Stoffwechseltherapie schon nach einer Woche erreicht werden, während das Nierenvolumen und die Filtrationsoberfläche während der ersten 3 - 7 Behandlungswochen unverändert vergrößert bleiben (14,37). Hieraus ergibt sich, daß die Filtrationsoberfläche per se und damit allein ein veränderter Ultrafiltrationskoeffizient nicht ausreicht, die Überfunktion der Niere zu erklären. Beispielsweise sind für die Glomeruläre Filtrationsrate in dieser speziellen Situation besonders metabolische und hormonelle Einflüsse zu diskutieren, die den Plasmafluß und den transkapillären Druckgradienten beeinflussen. Auch Tierversuche zeigen deutlich, wie die akute funktionelle Situation von der Stoffwechseleinstellung abhängig ist. Bei hochgradig diabetischen Ratten tritt eine Verminderung der Glomerulären Filtrationsrate aufgrund einer starken Widerstandserhöhung der Glomerulären Kapillaren und einer damit verbundenen Strömungsverlangsamung auf, wobei das Nierengewicht dieser schwer erkrankten Tiere nicht gerin-

ger war als das derjenigen Ratten, mit gesteigerter Nierenfunktion bei nur leichter Stoffwechselstörung (44,45). Es muß folglich zwischen akut reversiblen funktionellen Veränderungen und morphologisch induzierten langsamer reversiblen funktionellen Veränderungen im Frühstadium des Diabetes mellitus unterschieden werden. Dabei sind die akut reversiblen Veränderungen stärker von der momentanen Stoffwechsellaage abhängig, (und der dadurch induzierten Beeinflussung von Renalem Plasmafluß und transkapillärer Druckdifferenz), als vom vergrößerten Ultrafiltrationskoeffizienten, (der aufgrund einer vergrößerten Filtrationsoberfläche unter Umständen zusätzlich die Glomeruläre Filtrationsrate steigert).

Veränderungen der Eigenschaften der glomerulären Kapillarmembran kennzeichnen sowohl frühe als auch späte Stadien des Diabetes mellitus. Bei einer fortgeschrittenen Nephropathie ist eine funktionstüchtige periphere Kapillaroberfläche weitgehend reduziert. Winetz und Mitarbeiter zeigten, daß für den renalen Funktionsverlust in diesem Stadium zu einem großen Teil ein stark verminderter Ultrafiltrationskoeffizient verantwortlich gemacht werden kann. Für eine auf 20% des Normalen verringerte Glomeruläre Filtrationsrate errechneten sie einen um das achtfache erniedrigten Koeffizienten (169).

Morphologische Veränderungen bestimmen langfristig die Funktion der Niere, während am Anfang des Krankheitsverlaufes besonders funktionelle Veränderungen die Pathogenese der Glomerulosklerose zu bestimmen scheinen. Die Korrelation zwischen funktionellen Störungen und einzelnen auffälligen morphologischen Befunden in den verschiedenen Stadien der Erkrankung ist vielfach noch unklar. Es mag teilweise daran liegen, daß die direkte Messung einiger Phänomene beim Menschen nicht möglich ist (s.o.). So steht aber bis jetzt letztendlich auch eine Beurteilung aus, welche morphologischen Einzelheiten jeweils hauptsächlich die unterschiedlichen funktionellen Veränderungen bestimmen (100). Der genauen Beobachtung der Entwicklung morphologischer Befunde kommt somit auch eine grundlegende Bedeutung bei, die gegenseitige Wechselwirkung funktioneller und morphologischer Veränderungen zu klären.

2.6.2. Die Entwicklung morphologischer Veränderungen

Das charakteristische histologische Erscheinungsbild der diabetischen Glomerulosklerose wurde bereits beschrieben. In seiner typischen Ausprägung bietet es keine differentialdiagnostischen Schwierigkeiten. Bei der Beschreibung morphologischer Phänomene sind die wesentlichen Kriterien die Expansion der peripheren extrazellulären Basalmembran und der basalmembranähnlichen Matrix des Mesangiums, sowie die Vermehrung der Mesangiumzellen. Allein der Befund einer verdickten Basalmembran, ohne klinischer Symptomatik, ist zwar noch nicht ausreichend, um eine Mikroangiopathie zu diagnostizieren (47,76,77,142), die Basalmembrandicke selbst hängt jedoch von der Dauer der manifesten diabetischen Erkrankung ab, und sie ist bei schlechter Stoffwechseleinstellung ausgeprägter als bei strenger Therapie (166).

Obgleich das typische Bild der Glomerulosklerose nun schon seit fast 50 Jahren bekannt ist, weiß man bis heute nicht sicher, welche Strukturen hauptsächlich für den Verschluß einzelner Glomerula verantwortlich sind (100).

Bei den morphologischen Befunden ist zwischen der akuten renalen Hypertrophie in der Frühphase des Diabetes mellitus und den chronischen renalen Veränderungen zu unterscheiden.

2.6.2.1. Renale morphologische Veränderungen bei Tieren

Als Modell zur Klärung der Entstehungsmechanismen der akuten Hypertrophie dienen im Tierversuch häufig Ratten, die keine genetische Prädisposition für die Stoffwechselerkrankung Diabetes mellitus besitzen, bei denen sich jedoch nach Diabetesinduktion mit β -zellzerstörenden Medikamenten, wie Alloxan oder Streptozotocin, ähnliche morphologische Veränderungen an der Niere ausbilden (37,43,48,63,67,129). Bei Ratten wird zumindest während der ersten Tage nach der Diabetesinduktion eine enge Korrelation zwischen dem Ausmaß der metabolischen Störung und dem Wachstum der Niere beobachtet, es sei denn der Blutzuckerspiegel beträgt über 500 mg% (129). Bei sehr schwerwiegender diabetischer Stoff-

wechsellage tritt keine Hypertrophie mehr auf (129). Die Ratten zeigen schon 48 Stunden nach dem Auftreten der Glukosurie infolge der Diabetesinduktion eine Erhöhung des RNA-Gehaltes des isolierten Glomerulum um 12% (37,129). Nach vier Tagen hat das Nierengewicht um 20%, das glomeruläre Volumen um 25-40% zugenommen (37,98,129). Insgesamt ist die Basalmembranmenge um etwa 40-50% erhöht (37,98). Nach vier Wochen erkennt man mikroskopisch eine Vergrößerung des gesamten glomerulären Volumens, des Mesangiums, des mesangialen Basalmembranmaterials sowie der Oberfläche der Kapillarwände (43). Das Nierengewicht hat um 50% zugenommen (37). Das biochemisch definierte Basalmembranmaterial hat sich aufgrund der Oberflächenvergrößerung der Kapillaren auf das Doppelte vermehrt (37,40). Die erhöhte totale Filtrationsoberfläche und das glomeruläre Volumen stagnieren jedoch nach ungefähr vierwöchigem Wachstum auf einem Niveau, das nicht-diabetische Kontrolltiere durch kontinuierliches Wachstum nach rund 18 Monaten auch erreicht haben (43,99). Die eigentliche Basalmembranverdickung und eine Vermehrung der mesangialen Matrix läßt sich bei Ratten nach 6 Monaten Diabetes feststellen (119,138). Es kommt zu mesangialen Ablagerungen von Immunglobulinen und Komplement. Mesangiales Material schiebt sich zwischen die Endothelzellen und die glomeruläre Basalmembran auf Kosten der glomerulären peripheren Kapillaroberfläche (137). Eine gute Stoffwechseleinstellung führt zu einer Rückbildung mesangialer Veränderungen. Bei diabetischen Ratten sind von der mesangialen Verdickung sowohl Mesangiumzellen als auch die Matrix betroffen (137). Der Hauptanteil der Vergrößerung des Volumens ist auf die Matrixvermehrung zurückzuführen (119,138). Ihr Anteil nimmt nach der Stoffwechselnormalisierung am stärksten ab, so daß das gesamte Mesangiumvolumen schließlich wieder auf normale Ausgangswerte zurückgeht. In Tierexperimenten läßt sich eindrucksvoll zeigen, inwieweit solche Veränderungen nach der Normalisierung des Metabolismus rückbildungsfähig sind. Mesangiale Immunglobulin- und Komplementablagerungen verschwinden 2 Monate nach der Transplantation einer durch Diabetes mellitus geschädigten Niere in ein stoffwechselgesundes Tier (67,138), oder aber es kommt zu einer Rückbildung dieser

morphologischen Veränderungen nach einer Inselzelltransplantation (63,69,137).

Während ausgeprägte Veränderungen im Mesangium also weitgehend reversibel sind, zeigt die einmal verdickte Basalmembran auch vier Monate nach einer Pankreastransplantation und der Normalisierung des Metabolismus keine Rückbildungstendenz mehr (67). Die akute Basalmembranakkumulation läßt sich aber, wie schon erwähnt, durch strenge Blutzuckerkontrolle vermeiden (37). Daher könnte es sein, daß morphologische Auffälligkeiten im Mesangium und an der Basalmembran durch unterschiedliche pathogenetische Mechanismen zustande kommen, und auch hinsichtlich funktioneller Konsequenzen für die Niere jeweils gesondert betrachtet werden müssen (66).

Die Volumenvermehrung der Glomerula und des Mesangiums kennzeichnen also die frühesten Phasen der morphologischen Veränderungen. Sie zeigen jedoch keine Progression mit zunehmender Diabetesdauer (43). Späte mesangiale Veränderungen, wie sie die Glomerulosklerose beim Menschen kennzeichnen, sind bei Ratten nicht nachweisbar (43). Die Tiere eignen sich nicht für Langzeitstudien, da ihre Überlebensrate kaum länger als 18 Monate beträgt (43,138). Somit ist wahrscheinlich der Beobachtungszeitraum zu kurz, um bei den Ratten Bilder des Endstadiums der Glomerulosklerose, wie sie für die menschliche Niere typisch sind, zu beobachten.

Bei Ratten beträgt die Verdickung der Basalmembran im ersten Jahr der Erkrankung allerdings 20-25% und ist damit viermal so stark wie die der menschlichen Niere (43). Noduläre Veränderungen werden bei Nagetieren nicht beobachtet, was unter Umständen auch wieder mit ihrer Überlebensrate zusammenhängt. Bei ihnen scheint, wie auch beim Menschen (s.o.), eine progrediente Basalmembranverdickung zudem ein altersabhängiger Prozess zu sein, allerdings ist das Ausmaß der Basalmembranverdickung diabetischer Ratten gegenüber den gesunden Tieren um über 50% gesteigert (43).

2.6.2.1. Frühe morphologische Veränderungen in der menschlichen Niere

Diabetiker mit erst kurzer Krankheitsdauer (weniger als 2.5 Jahre) weisen, wie schon erwähnt, sowohl bei radiologischer Bestimmung der Nierengröße mittels i.v. Pyelogramm als auch bei sonographisch durchgeführter Messung ein um circa 25% vergrößertes Nierenvolumen auf (16,81). Die Ursache dieser Nierenvergrößerung ist unbekannt (45). Störungen im Hormonhaushalt als Folge der entgleisten Stoffwechsellage könnten dabei unter Umständen eine Rolle spielen (81,96,139); daneben wird aber auch der langfristig vermehrte renale Glukosetransport bei Diabetikern als Stimulus für eine Vergrößerung der Niere diskutiert, sozusagen als Anpassung an die Bedürfnisse einer gesteigerten Funktion (81).

In genauen Analysen erwies sich die akute Organvergrößerung primär als Folge einer zellulären Hypertrophie, also einer Volumenvergrößerung einzelner Zellen sowohl des glomerulären als auch des tubulären Apparates (128). Mengenmäßig sind besonders die Tubuli betroffen. Sie machen insgesamt ungefähr 80% der Nierenmasse aus (37,98). Auch wenn demgegenüber der Prozentsatz der Glomerula am Gesamtvolumen der Niere nur etwa 2% beträgt, ist zum Zeitpunkt der Diabetesdiagnose die Oberfläche des glomerulären Gefäßknäuels um ungefähr 80% vergrößert (59). Die Basalmembransubstanz ist dann um über 90% vermehrt. Allerdings weist die kapilläre Basalmembran noch keine Verdickung auf, sondern diese Mengenzunahme ist allein Folge der vergrößerten Zelloberfläche bzw. ist sie der Zunahme der absoluten Länge der glomerulären Kapillaren zuzuschreiben (59).

Daß es sich bei der Oberflächenvergrößerung nicht etwa um eine durch gesteigerten Druck bewirkte Aufblähung der Kapillaren handelt, beweist das Verhältnis von glomerulärer Oberfläche und Volumen. Beide Größen sind im Zustand der akuten Hypertrophie in gleichem Ausmaß vermehrt (59).

Die frühe glomeruläre Hypertrophie setzt wahrscheinlich schon parallel mit dem Einsetzen der diabetischen Stoffwechsellage ein

(40,43,90,98). Nach einiger Zeit kommt das Wachstum der Kapillaroberfläche jedoch durch unbekannte Mechanismen zum Stillstand (59). Es ist bisher nicht geklärt, wie lange die akute Hypertrophie nach Beginn der Erkrankung fortbesteht. Solange die Glomeruläre Filtrationsrate erhöht bleibt, ist aber wahrscheinlich auch weiterhin die Glomerulumboberfläche vergrößert (85,99). Die akute Basalmembranakkumulation, als Ausdruck des akuten glomerulären Wachstums, stellt, wie schon erwähnt, einen qualitativ andersartigen Prozess dar als die langsam fortschreitende Mikroangiopathie. Erstere darf also nicht mit der Basalmembranverdickung in den späteren Stadien der Erkrankung verwechselt werden (99). Ob und inwieweit sich die späten Veränderungen aus den frühen entwickeln, ist Gegenstand der aktuellen Forschung.

2.6.2.2. Die Entwicklung chronischer morphologischer Veränderungen

Eine Basalmembranverdickung bei diabetischen Patienten ist frühestens nach eineinhalbjähriger Dauer der Stoffwechselstörung zu erwarten (69,96). Nach 5 Jahren beträgt die Verdickung ungefähr 30% (96). Daten bezüglich der mesangialen Region belegen, daß während der ersten Jahre das mesangiale Volumen als Fraktion des gesamten Knäuels nicht zunimmt, wohl aber gerade eine im Verhältnis zu den Mesangiumzellen geringe relative Zunahme des basalmembranähnlichen Materials erfolgt (90,96). Entsprechend sind 2 Jahre nach der Transplantation einer morphologisch unauffälligen Spenderniere in einen an Diabetes mellitus erkrankten Patienten mesangiale Läsionen schwierig aufzuzeigen, jedoch erscheinen auch hier erste feine morphologische Veränderungen zuerst im Matrixanteil (68). In fortgeschrittenen Fällen der diabetischen Nephropathie ist diese Vermehrung ausgeprägter, das Volumen des Mesangiums hat erheblich zugenommen und trägt somit, vermutlich, hauptsächlich zur progressiven Obliteration der Glomerula und zur Verkleinerung der peripheren Filtrationsober-

fläche bei (43,68,90,100,138). Bilder der diabetischen Glomerulosklerose im Endstadium lassen retrospektiv zudem auf ein kontinuierliches Dickerwerden der Basalmembran schließen (43,59,99), obgleich eine quantitative Auswertung von Nierenbiopsien bei Langzeitdiabetikern mit Nephropathie insgesamt nur etwa eine Verdoppelung der peripheren Basalmembrandicke ergab, zugleich aber eine relativ stärkere Zunahme des Mesangiums auf 60% des gesamten glomerulären Volumens (100). Im Gegensatz dazu beträgt im Frühstadium der Erkrankung das mesangiale Volumen ungefähr 30% (100). Im Spätstadium der Nephropathie sind 85% der gesamten Basalmembransubstanz des glomerulären Gefäßknäuels im Mesangium lokalisiert, während im Frühstadium eine gleich starke Zunahme des Volumens der peripheren Basalmembran und der mesangialen Matrix stattfindet (100).

Die Korrelation zwischen sklerotisch verschlossenen Glomerula mit Rückgang der glomerulären Funktion, wie sie Østerby und Gundersen beschrieben (39), legt nahe, daß die fortgesetzte strukturelle Zerstörung der Glomerula mit nachfolgender Fehlfunktion zum Endstadium der Niereninsuffizienz, der Urämie, führen (4,37,90,99). Bei der klinischen Manifestation der Nephropathie muß, zumindest wenn man Mauer und seinen Mitarbeitern folgt, noch keine Korrelation zwischen Proteinurie, Hypertonie und sinkender Glomerulärer Filtrationsrate auf der einen und der Anzahl der verschlossenen Glomerula auf der anderen Seite bestehen (68). Die Ergebnisse ihrer Studien ergaben eine mit dem Auftreten der klinischen Proteinurie einhergehende Verkleinerung der peripheren Kapillaroberfläche um mindestens 50%, wobei die einzelnen Kapillarschlingen nur noch ein minimales Restvolumen aufwiesen (68). Folglich könnte sich, nach diesem Befund, die klinische Nephropathie bei Patienten mit fortgeschrittenen mesangialen Veränderungen auch schon bei weniger als 10% hyalinisierten, also total verschlossenen Glomerula manifestieren (68). Die einander widersprechenden Beobachtungen der beiden Arbeitsgruppen erklären sich möglicherweise dadurch, daß Østerby und Gundersen, anders als Mauer und Mitarbeiter, Patienten untersuchten, deren Glomerulosklerose schon weiter fortgeschritten waren.

2.6.2.3. Zusammensetzung und Stoffwechsel der Basalmembran

Als Voraussetzung für das Verständnis des pathogenetischen Mechanismus der Basalmembranakkumulation und für die Klärung der funktionellen Folgen struktureller Veränderungen, dient die Untersuchung der biochemischen Zusammensetzung der Basalmembran.

Die Basalmembran gilt einerseits als kapilläres Stützgerüst (41,124), und wird ferner, da sie als geschlossene anatomische Barriere zwischen Plasma und Filtrat imponiert, als Hauptkomponente des molekularen Filters angesehen (134,166). Mögliche Änderungen der molekularen Strukturen beim Diabetes mellitus könnten folglich funktionelle Störungen bedingen.

Die Grundbausteine der glomerulären Basalmembran sind Kollagen Typ IV und Proteoglykane (41,124,168). Dem Kollagenfasengerüst wird hauptsächlich die Stütz- und Filterfunktion zugeschrieben, während Proteoglykane aufgrund ihrer negativen Nettoladung dafür sorgen, daß normalerweise besonders die Membranpassage anionischer Makromoleküle verhindert wird (111,168). Der molekulare Aufbau der glomerulären Basalmembran wird als ein Gerüst verzweigter, übereinander gelagerter und quervernetzter Polypeptidketten betrachtet, wobei an den Kollagenketten, an Hydroxylysin- und Hydroxyprolinresten Disaccharideinheiten, bestehend aus Glukose und Galaktose, und verzweigte Heteropolysaccharide, wie Sialinsäure, an Aspartat gebunden sind (134). Die Glykoproteinnatur der Basalmembran ist für die positive PAS-Reaktion verantwortlich (4,96,134). Vor allem die Sialinsäure am Glykoproteingerüst des Kollagens und das in die Proteoglykane eingebaute Heparansulfat scheinen die elektrostatische Ladung der glomerulären Filtrationsoberfläche zu bestimmen (52,111,126,166), während Laminin und Fibronektin, zwei weitere aus der Basalmembran zu isolierende Proteoglykane den Kontakt zwischen Endothel- und Epithelzellen an der Basalmembran ermöglichen sollen (20,21). Den elektronenmikroskopisch zu differenzierenden Arealen der Lamina rara sollen hauptsächlich die Proteoglykane entsprechen, der Lamina densa das Kollagenfasengerüst der Basalmembran (20,21,71).

Synthese und Abbau der glomerulären Basalmembran vollziehen sich normalerweise sehr langsam (41,134). Bei Diabetikern ist die Basalmembransynthese erhöht (164). Dies zeigt sich einerseits an einem gesteigerten Einbau von radioaktiv markiertem Prolin in die Basalmembran (66,163,164), andererseits ist die Aktivität spezifischer Enzyme der Basalmembransynthese erhöht (134). In frühen Stadien der Erkrankung läßt sich jedoch beispielsweise die erhöhte Aktivität des Enzyms Lysylhydroxylase durch Insulinbehandlung wieder normalisieren (164). Die Biosyntheseschritte, an denen diese Enzyme beteiligt sind, stellen post-ribosomale Schritte des Basalmembranaufbaues dar, sind somit also nicht genetisch vorprogrammiert, sondern durch "äussere" Faktoren, wie das Stoffwechselmilieu, zu beeinflussen (134). Hydroxylasen führen Hydroxylgruppen in Lysin- und Prolinreste ein, in einem zweiten Reaktionsschritt können dann Transferasen die Disaccharideinheiten auf die Hydroxylgruppen übertragen. Einen möglichen Effekt des hyperglykämischen Stoffwechselmilieus auf post-ribosomale Schritte der Basalmembransynthese, also eine vermehrte Anlagerung von Kohlenhydratuntereinheiten an das Basalmembrankollagen, scheinen Untersuchungen zu belegen, die vermehrt Hydroxyl- und Hydroxyprolin, sowie Glukose und Disaccharide in Basalmembranpräparationen von Diabetikern fanden (4,9,134). Allerdings blieben diese Befunde einer veränderten Basalmembranzusammensetzung nicht unumstritten (66,70,78,124,167).

Unterschiedliche Ansichten erklären sich möglicherweise aus methodischen Schwierigkeiten bei der Isolierung von glomerulärer Basalmembran (163); unter Umständen spiegeln sich in diesen widersprüchlichen Ergebnissen aber auch unterschiedliche Werte der metabolischen Einstellung vor der Gewinnung des Untersuchungsmaterials. Denn sowohl das Ausmaß des enzymatischen Glukoseeinbaus, als auch die nicht-enzymatische Glykosylierung von Basalmembrankollagen (s.u.) stellen von der Glukosekonzentration im Serum abhängige Reaktionen dar.

Allein biochemische Untersuchungen, die qualitative und quanti-

tative Aussagen über die Zusammensetzung der glomerulären Basalmembran zulassen, geben nur unzureichend Auskunft über ihre Struktur. Aussagen über die räumliche Verteilung einzelner Komponenten der Basalmembran und der mesangialen Matrix liefern dagegen neuere immunhistochemische Untersuchungen (32). Durch die Herstellung spezifischer Antikörper gegen einzelne Basalmembranbestandteile und der speziellen histochemischen Darstellung dieser "Antigen-Antikörper"-Reaktionen werden sowohl Erkenntnisse über die räumliche Verteilung der entsprechenden Proteoglykane und Kollagenkomponenten, als auch über die qualitative Zusammensetzung der peripheren Basalmembran und der mesangialen Matrix in den verschiedenen Stadien der Glomerulosklerose gewonnen.

Neben der Untersuchung der eigentlichen Bausteine der Basalmembran, gelingt mit dieser Methode auch der Nachweis vermehrter extrazellulärer Ablagerungen von Serumproteinen besonders von Albumin (66), Immunglobulinen und Komplement (32, 162). Solche extrinsischen, also ursprünglich nicht zur Basalmembransubstanz gehörenden Komponenten treten unabhängig von der Basalmembrandicke auf (66). Ihre Herkunft und pathogenetische Bedeutung sind derzeit noch unbekannt. Gerade die immunhistologischen Analysen zeigen, wie komplex die einzelnen Bestandteile der Basalmembran verteilt sind und, daß in unterschiedlichen Stadien der Glomerulosklerose auch eine unterschiedliche Zusammensetzung der Basalmembranbausteine zu erwarten ist (32). Mit zunehmender Dauer der Glomerulosklerose tritt sowohl eine Verminderung einzelner Proteoglykane als auch einzelner Kollagenbestandteile auf, zudem kommen plötzlich sonst nur beim Feten nachgewiesene Membranbestandteile hinzu; und für einige derartiger Membrankomponenten steht sogar eine Identifizierung noch aus (32). Folglich ist zu erwarten, daß zukünftige Immunfluoreszenzanalysen weitere wertvolle Informationen liefern. Nicht zuletzt könnten immunologische Nachweismethoden zur Klärung beitragen, ob die strukturellen Veränderungen im Mesangium und in der peripheren Basalmembran eine unterschiedliche oder gemeinsame Genese aufweisen (s.o.). Es kann

mit dieser Methode aber auch der Frage nachgegangen werden, ob immunologische Mechanismen für die Pathogenese der Nephropathie eine Rolle spielen. Die Ablagerung von Serumproteinen wird derzeit aufgrund der veränderten Proteinbindung der glomerulären Basalmembran oder einer fehlerhaften "mesangialen Clearance" aber nicht als Folge immunologischer Prozesse angesehen (66,162).

2.6.2.4. Mechanismen der Basalmembranverdickung

Ein vermehrter Gefäßaustritt von Proteinen wird ganz allgemein als Ursache einer gesteigerten Basalmembransynthese postuliert (71,167). Zum Einen führt eine erhöhte Proteinpassage bei Diabetikern an sich, nach einem ursprünglich von Lendrum aufgestellten Konzept der "Plasmatischen Vaskulose", zu einer nachfolgenden kumulativen Ablagerung von Proteinen in der Kapillarwand, und würde somit als Langzeiteffekt zur Mikroangiopathie beitragen (nach 102), andererseits bewirke ein vermehrter transkapillärer Proteinaustritt reaktiv eine Verdickung der Basalmembran, um einem weiteren Proteinverlust entgegenzuwirken und eine normale Gefäßpermeabilität wieder herzustellen (164). Sollten unter den aus den Kapillaren austretenden Proteinen auch plasmatische Kollagenaseinhibitoren verloren gehen, wäre dieser rein hypothetische Sachverhalt zusätzlich ein Faktor den Basalmembranabbau zu hemmen (167). Ein experimenteller Beleg dieser theoretischen Ansätze steht noch aus, obgleich einige in dieser Hinsicht wichtigen Befunde zu verzeichnen sind:

Den Mesangiumzellen wird eine Rolle beim Abbau von Basalmembranbestandteilen und eine Transportfunktion für Makromoleküle zugeschrieben (65,66). Allein eine Funktionseinschränkung dieser Zellen im Zustand der Hyperglykämie, wie sie bei diabetischen Ratten nach intravenöser Verabreichung von Proteinen in einer vermehrten mesangialen Ablagerung derselben zu beobachten war, deuten auf einen kausalen Zusammenhang zwischen verminderter Zellfunktion und Proteinablagerung, noch dazu, nachdem, wie schon

oben berichtet, besonders mesangiale Serumproteinablagerungen durch gute Stoffwechselkontrolle bei Ratten reversibel sind.

Hierzu paßt auch die Beobachtung, daß im hyperglykämischen Milieu die Aktivität von in der Gefäßwand fixierten Phagozyten vermindert sein soll (46). Dies könnte also auch ein Grund für die Einlagerung von Antigen-Antikörper-Komplexen in die Gefäßwand sein (46).

Entweder könnten also die Makromoleküle selbst, oder auch lokale Reaktionen auf die mesangiale und endotheliale Anhäufung derselben zu charakteristischen strukturellen Veränderungen führen (7).

Hinweise für potentiell schädliche Wirkungen der Glukosekonzentration im Serum wurden im Tierexperiment gefunden. Das Einbringen von Basalmembran produzierenden Tumorzellen in einen hyperglykämischen Wirtsorganismus (hier: diabetische Ratten) hatte eine verminderte Produktion von Heparansulfat zur Folge (87). Wie schon erwähnt, ist dieses Glukosaminoglykan, als Bestandteil anionischer Proteoglykane, wahrscheinlich für die elektrostatische Integrität der glomerulären Membran verantwortlich. Ladungsveränderungen durch fehlendes Heparansulfat könnten somit die strukturelle Basis der Membrandefekte in der Frühphase der Glomerulosklerose darstellen.

In vitro läßt sich an Mäusen eine Basalmembranverdickung durch die Injektion glykosylierter Plasmaproteine stimulieren (73). Ob eine Glykosylierung mit möglicher molekularer Konformitätsänderung von Makromolekülen einen Einfluß auf die Funktion ganz allgemein und besonders auf die Ablagerung dieser Proteine in der Basalmembran besitzt, ist noch nicht endgültig geklärt (166). Zumindest scheint die in vitro Glykosylierung von Albumin seine Affinität zur glomerulären Basalmembran nicht zu verstärken, auch wenn in dem hierzu untersuchten Fall nicht ausgeschlossen werden konnte, daß potentielle Albuminbindungsstellen an der Basalmembran mit endogenem Albumin bereits abgesättigt waren (52).

Wie bereits angedeutet, könnte im hyperglykämischen Organismus die nicht-enzymatische Glykosylierung, nicht nur beim Hämoglobin A

(s.o.), sondern bei einer ganzen Reihe von Proteinen, erhebliche Auswirkungen auf deren jeweils spezifischen Funktionen besitzen. Da es sich bei dieser Reaktion um einen konzentrations- und zeit-abhängigen Prozess handelt (7,18), erscheint eine grundsätzliche Bedeutung dieser Reaktion in der Pathogenese der Mikroangiopathie wahrscheinlich, noch dazu, da hieraus eine Beziehung zwischen Diabeteskomplikationen der Mikroangiopathie und der langfristigen Stoffwechselkontrolle offensichtlich werden (47,73,166). Erst kürzlich fanden Cohen und Wu bei Ratten mit hyperglykämischem Stoffwechselmilieu in vivo eine vermehrte nicht-enzymatische Glykosylierung freier Lysyl- und Hydroxyllysylgruppen am Kollagen-gerüst der Basalmembran (18a). Neben den funktionellen Folgen einer verminderten Quervernetzung des Basalmembrankollagens, also einer beeinträchtigten molekularen oder elektrostatischen Integrität der kapillaren Filtrationsbarriere (18), könnte für die glykosylierten Proteine auch ein weniger effektiver Abbau und damit eine Akkumulation durch Verlängerung der biologischen Halbwertszeit stattfinden. Dies gilt etwa für Basalmembranbestandteile als auch für Plasmaproteine, wie beispielsweise für Fibrin (7).

Eine gesteigerte Kapillardurchlässigkeit für Proteine und/oder ein gestörter Abtransport derselben beim Diabetes hängen ursächlich wahrscheinlich sowohl mit den Folgen der chronischen Hyperglykämie als auch mit funktionellen hämodynamischen Veränderungen in der Niere zusammen.

Ob zuerst funktionelle Veränderungen, also beispielsweise, wie bereits erwähnt, ein erhöhter Filtrationsdruck, zu einer gesteigerten Proteindurchlässigkeit führen (4,71,101,102), oder ob metabolisch induzierte Veränderungen, wie eine vermehrte Glykosylierung von Plasmaproteinen, die Eigenschaften der Moleküle, und damit ihre Behandlung an Membranen beeinträchtigen (110), und zudem die Glykosylierung von Strukturproteinen die Durchlässigkeit der Membranen verändern, kann hier nicht entschieden werden.

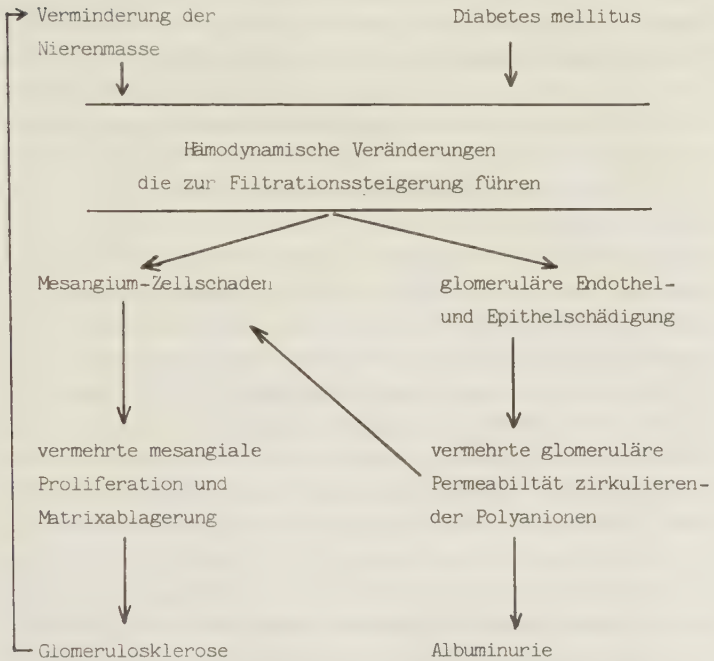
Jedoch besitzen hämodynamische funktionelle Veränderungen wohl einen nicht zu unterschätzenden Einfluß auf die Progression der

morphologischen Veränderungen. Dies wird beispielsweise durch die schon erwähnte Wirksamkeit einer Hypertoniebehandlung bei diabetischer Nephropathie eindrucksvoll belegt, und hierzu seien nun noch weitere Beispiele genannt: Es gibt einen aufschlußreichen Autopsiebericht über einen Diabetiker mit einseitiger Nierenarterienstenose: Während die stenosierte Niere von morphologischen Veränderungen einer Glomerulosklerose weitgehend verschont geblieben war, hatten sich auf der kontralateralen Seite schwerste morphologische Veränderungen ausgebildet (nach 66). Analog dazu bildete sich im Tierexperiment eine Glomerulosklerose schneller aus, wenn diabetischen Ratten eine Niere entfernt worden war, oder auch nur der arterielle Gefäßstiel einer Niere abgeklemmt wurde, und im verbliebenen bzw. kontralateralen Organ kompensatorisch ein erhöhter glomerulärer kapillärer Durchfluß herrschte (65,137). Daraufhin wurde untersucht, inwieweit unterschiedliche Ursachen einer veränderten glomerulären Hämodynamik zu den tiefgreifenden Veränderungen der strukturellen Integrität der Niere führen könnten (s. Abb. 5). Als wichtigster hämodynamischer Faktor wäre, wie schon erwähnt, der transglomeruläre Druckgradient zu nennen, der über eine Steigerung des vaskulären Proteinaustritts reaktiv eine Basalmembranverdickung induzieren könnte (4). Daneben wurde vermutet, daß allein der verstärkte Dehnungsreiz auf die kapilläre Gefäßwand eine vermehrte Basalmembransynthese zur Folge haben könnte, analog einer Stimulation der Kollagenproduktion in der Haut durch chronische Druckeinwirkung (167).

Nachdem es sich bei der Basalmembran um sehr unelastisches Gewebe handelt, können bei zunehmender Verdickung wahrscheinlich auch vasoaktive Substanzen an den Kapillaren ihre Wirkung nicht mehr voll entfalten (167). Die myogene Autoregulation der Niere, die systemische Druckschwankungen normalerweise abfängt und für einen konstanten glomerulären Filtrationsdruck sorgt, versagt dann bei zunehmend versteiften interlobulären Gefäßen (27,71).

Die fatale Auswirkung vermehrter Scherkräfte auf die arteriell-läre Wand in diesem Zustand begünstigt wiederum den Proteinaustritt, sofern der Anstieg des Druckgradienten nicht durch kompen-

Abb.5: Mögliche Schritte der progressiven Veränderungen glomerulärer Strukturen und glomerulärer Funktionen, die wahrscheinlich als Folge einer anhaltenden Filtrationssteigerung auftreten (nach 4)



satorische Verengung des Gefäßradius abgefangen werden kann (71). Als Folge der abnormen Druckfluktuation könnte daher eine akzentuierte Sklerose auftreten, da durch den Verlust der Kontraktilität der den Glomerula vorgeschalteten Arteriolen diese vor erhöhtem Druck nicht mehr geschützt wären (71). Aus der Berechnung der Durchblutung einzelner Anteile der glomerulären Schlingen wurde geschlossen, daß es im zentralen kapillären Schlingenbereich längere und in der Geschwindigkeit des Blutstroms langsamere Bahnen besonders zum Schutz der mesangialen Matrix gäbe. Wenn, wie bei Diabetesbeginn, eine verstärkte Filtration vorherrscht, sei daher besonders die mesangiale Matrix aufgrund ihrer anatomischen Nachbarschaft zu den Kapillaren einer Schädigung ausgesetzt (130).

Neuere histologische Untersuchungen zum Vergleich der Ausprägung struktureller Veränderungen der Glomerulosklerose in oberflächlichen und tiefen Glomerula zeigen keine stärker ausgeprägten morphologischen Befunde in den juxtamedullären Glomerula, obgleich dort ein erhöhter Filtrationsdruck und eine stärkere Durchblutung des einzelnen Glomerulum herrschen sollen (100).

Ein weiteres Argument gegen die ursächliche Bedeutung funktioneller Faktoren sind die Langzeitergebnisse von Studien an nephrektomierten Ratten mit erhöhter Nierenfunktion, die ohne der diabetischen Stoffwechsellaage zu keinen morphologischen Veränderungen im Sinne der diabetischen Glomerulosklerose führen (91).

Inwieweit zu einem bestimmten Zeitpunkt bestimmte Strukturen im Einzelnen so gravierend Schaden nehmen, daß sich daraus eine diabetische Nephropathie entwickelt, bedarf der weiteren Klärung.

Gerade bei Altersdiabetikern treten häufig morphologische Veränderungen der Glomerula auf, ohne Folge einer meßbaren Überfunktion zu sein (34,91,108,128). Daneben befällt die diabetische Mikroangiopathie alle Organe, ungeachtet ihrer physiologischen und morphologischen Merkmale (91,124). Funktionellen Faktoren kommt daher wohl eher eine modifizierende als eine ursächliche Bedeutung für die Entwicklung der Glomerulosklerose bei.

Umgekehrt ist nach wie vor die Rolle der verdickten Basalmembran für die Nierenfunktion unklar. Es gibt keine eindeutige Beziehung zwischen gemessener Basalmembrandicke und Schweregrad der Nephropathie (47). Hiermit stellt sich die Frage nach der pathophysiologischen Relevanz einer verdickten Basalmembran gerade in Hinblick auf die Erfahrung, daß mit der Therapie bei nicht zu normalisierender Basalmembrandicke durchaus eine normale Nierenfunktion, also auch eine normale Albuminausscheidung erreicht werden kann (67,90,167). Hier können demnach morphologische Veränderungen dem klinischen Auftreten der Glomerulosklerose lange Zeit vorausgehen (94,95). Zudem scheinen bei allen Diabetikern nach einigen Jahren morphologische Veränderungen vorzuliegen, womit die Aufgabe weiterhin besteht, spezifische Risikofaktoren sowohl funktioneller als auch morphologischer Art zu benennen.

Als klinisch relativ einfach zu überprüfenden Parameter zur Feststellung des individuellen Nephropathierisikos dient vielfach die Bestimmung der Proteinurie.

Mit der Entwicklung sehr empfindlicher Proteinmeßmethoden, ist es heute möglich, eine vermehrte Albuminurie schon vor ihrem klinischen Nachweis aufzuzeigen. Folglich setzte die genaue Untersuchung der Mikroalbuminurie bei Diabetikern, also die mit herkömmlichen klinischen Tests nicht nachweisbare gesteigerte Proteinurie, mit dem Ziel ein, einen einfach reproduzierbaren, nicht invasiven Parameter als diagnostisches Kriterium einsetzen zu können, um individuell das Risiko der Nephropathie vorherzusagen, oder auch das Ansprechen und den Verlauf der Therapie verfolgen zu können. Von ehr wissenschaftlichem Interesse ist dann ferner die Fragestellung, inwieweit das Ausmaß der Proteinurie mit funktionellen und morphologischen Parametern in Beziehung zu setzen ist.

Vor der Beschreibung des praktischen Teils der Arbeit seien nun noch kurz funktionelle und morphologische Bedingungen der Proteinausscheidung dargestellt.

2.7. Die vermehrte Proteindurchlässigkeit als Parameter der Nierenschädigung

Die Proteinurie bei Diabetikern beruht vornehmlich auf einer gesteigerten transglomerulären Proteinpassage (92,154).

Anatomisch besteht die Glomerulumwand als Filtrationsbarriere aus drei Schichten, die von den Makromolekülen überwunden werden müssen (s. Abb. 6): der lamina fenestra der Endothelzellen, der Basalmembran und den Epithelzellen mit ihren ineinandergreifenden langen Fußfortsätzen, deren Zwischenräume sogenannte Schlitzmembranen abschließen (111,127). Aufgrund ihrer Struktur werden die Epithelzellen auch als Podozyten bezeichnet (111).

Vereinfacht stellt sich die Glomerulumwand als eine von zylinderförmigen Poren perforierte Membran dar, deren Durchlässigkeit vom Radius der einzelnen Poren und von der Porendichte abhängt. Kleinmolekulare Substanzen, wie beispielsweise Inulin (mit einem Molekulargewicht von 5 500) werden uneingeschränkt filtriert (127). Nach Berechnungen beträgt der Radius der hypothetischen Membranporen etwa 3.5-4.0 nm (127). Moleküle mit einem Molekulargewicht ab 80 000 werden daher allein aufgrund ihrer Größe im Kapillarlumen zurückgehalten. Die glomeruläre Proteinpassage verläuft wahrscheinlich extrazellulär durch die oben genannten drei Schichten (36). Da sowohl die Endothel- als auch die Epithelzellen von polyanionischen Proteoglykanen überzogen sind, bilden diese mit der gleichfalls anionischen Basalmembran eine wirksame Ladungsbarriere gegenüber geladenen Makromolekülen (36). Als wirksamstes Filtrationshindernis gelten am ehesten die Zwischenräume zwischen den Podozytenfortsätzen, die sogenannten Schlitzporen, und zwar aufgrund ihrer stärksten negativen Ladung, daneben aber eventuell auch die lamina densa der Basalmembran (8,36,111,167). Die Zusammensetzung des Filtrats ist also ausser von der Porengröße der Membran auch von der Ladung der Proteine abhängig. Jedoch bestimmen ausser den Eigenschaften der Moleküle selbst und hämodynamischen Faktoren, die die Proteinpassage durch die Kapillarwand beeinflussen, auch die tubuläre Rückresorption



Abb.6: Der Wandaufbau der glomerulären Kapillarschlinge (nach 111)

Während des Filtrationsvorganges vom Kapillarlumen (CL) in das Lumen der Bowmanschen Kapsel (US), müssen folgende drei Schichten überwunden werden:

1. Die gefensterten Endothelzellen (EN), deren Poren je einen Durchmesser von 70 nm aufweisen,
2. die Basalmembran (B) mit einer Breite von ca. 320 nm,
3. die Fußfortsätze (F) der Epithelzellen, deren Abstand voneinander ungefähr 25-60 nm beträgt. Die so gebildeten "Schlitzporen" überzieht eine dünne Membran. Am rechten oberen Bildrand sind Cytoplasma (EpCy) und Kern (EpN) der Epithelzelle zu erkennen.

die endgültige Exkretionsrate.

Zur Differenzierung der Lokalisation eines Eiweißverlustes bei verschiedenen Nierenerkrankungen bedient man sich der Bestimmung spezifischer Proteine: Zeichen einer tubulären Schädigung mit verminderter Proteinrückresorption ist die vermehrte β_2 -Mikroglobulinausscheidung, und als Indikator einer verstärkten glomerulären Durchlässigkeit gilt das Ausmaß der Albuminurie (83,101,111,112). Albumin mit einem Durchmesser von 3.6 nm wird bei physiologischem pH-Wert an der glomerulären Basalmembran aufgrund seiner negativen Ladung normalerweise zurückgehalten (111,169). Zur Ausscheidung gelangt daher in der Regel sehr viel weniger als 1% der gesamten Albuminmenge (127).

Bei Diabetikern wird vor allem eine gesteigerte transglomeruläre Proteinpassage beobachtet, die mit einer vermehrten Albuminurie einhergeht (83,101,105,147,154,169). Die β_2 -Mikroglobulinausscheidung ist bei ihnen auch bei einer erhöhten Mikroalbuminurie, im Normbereich (101,145,147). Erst wenn es in weit fortgeschrittenen Stadien der diabetischen Nephropathie zu einer starken Funktionseinschränkung der Niere, wie beispielsweise einer Glomerulären Filtrationsrate von weniger als 40-45 ml/min/1.73 m² Körperoberfläche, gekommen ist, zeigt eine vermehrte β_2 -Mikroglobulinausscheidung auch eine tubuläre Dysfunktion an (149,153). Diese wird in jenem Stadium der massiven Proteinurie aber vor allem auf ein tubuläres Überangebot an Proteinen in den noch funktionierenden Nephronen zurückgeführt und ist somit möglicherweise nur als Folge der gesättigten Reabsorptionskapazität zu werten (153). Einschränkung für die Bedeutung der Bestimmung der β_2 -Mikroglobulinausscheidung sei angemerkt, daß neuere Untersuchungen zeigten, daß im sauren pH-Bereich (≤ 4.5) die Konzentration dieses Proteins nicht mehr zuverlässig bestimmt werden kann (32a).

Bevor es bei der diabetischen Nephropathie zu der mit semi-quantitativen Teststreifen leicht nachweisbaren klinischen Proteinurie kommt, erfolgt ein Anstieg der nur radioimmunologisch oder mit vergleichbar empfindlichen Methoden meßbaren Mikroalbu-

minurie (153). Im Gegensatz zur progressiv fortschreitenden irreversiblen klinischen Proteinurie ist eine gesteigerte Mikroalbuminurie reversibel, denn sie läßt sich durch die optimale Einstellung des Blutzuckers normalisieren. So zeigen Diabetiker mit einer Krankheitsdauer von weniger als einem Jahr, bei guter Stoffwechselführung, eine normale Mikroalbuminurie (85). Eine erhöhte Albuminexkretionsrate bei gerade erst diagnostizierten Patienten ist durch optimale Therapie in kürzester Zeit zu normalisieren (80, 83, 92, 101, 102, 147). Selbst nach über sechsjähriger Diabetesdauer kann im Gegensatz zur konventionellen Therapie schon eine ein- bis dreitägige Behandlung mit Insulininfusions-Dosiergeräten eine Senkung oder sogar Normalisierung der erhöhten Mikroalbuminurie bewirken (147).

Auch trotz einer normalen basalen Mikroalbuminurie weisen Diabetiker im Belastungstest schon bei geringerer Arbeit auf dem Fahrradergometer als Gesunde eine gesteigerte glomeruläre Durchlässigkeit auf (83, 149). Ein solcher Provokationstest auf dem Fahrrad wird daher gerne durchgeführt, um frühe Veränderungen der Nierenfunktion zu erkennen (85, 92, 145, 156). Dieser Test läßt, ebenso wie die umgehende Wiederherstellung einer normalen Proteinurie nach Normalisierung des Stoffwechsels, auf schnell reversible, also besonders funktionelle Faktoren als Determinanten der Mikroalbuminurie schließen. Hämodynamische Veränderungen, wie etwa der gesteigerte transglomeruläre Filtrationsdruck, kämen hier vor allem in Frage; daneben werden aber auch mögliche Veränderungen der elektrostatischen Barriere der Glomerulummembran diskutiert (153, 154). Die Selektivität der molekularen Siebung bleibt noch erhalten. Clearance-Untersuchungen ergeben keine Auffälligkeiten bezüglich der Filtrationseigenschaften der glomerulären Membran (83).

Untersuchungen, die mit neutralen Dextranmolekülen unterschiedlicher Größe bei Patienten mit fortgeschrittener Nephropathie durchgeführt werden, beschreiben offensichtlich eine zweigipflige Verteilungskurve. Bei kleineren Molekülen ($r \leq 2.4 - 4.4$ nm) hat man eine verminderte Durchlässigkeit festgestellt, während große Moleküle ($r > 5$ nm) vermehrt im Urin ausgeschieden werden (36, 154, 169). Daher vermutet man als Ursachen der massiven Proteinurie die Entwicklung einer kleinen Population großer Poren oder Defekte

sowie den Verlust polyanionischer Glykoproteine, neben einer Verminderung der absoluten Porendichte durch die progressive Obliteration einzelner Glomerula (154,169).

Nach den bereits erwähnten Berechnungen von Winetz und Mitarbeitern, ist der Ultrafiltrationskoeffizient bei chronischer Nephropathie auf ungefähr 13% der Norm vermindert (169). Dies entspräche, wie sie anführen, vor allem einer substantiellen Reduktion der Porendichte der glomerulären Membran, während demgegenüber eine Verkleinerung der Porenradii weniger ins Gewicht fiele. Der Funktionsverlust und die verminderte Membrandurchlässigkeit für kleine Moleküle wären also die Folge des progressiven Verlustes der glomerulären Filtrationsoberfläche, ohne daß zusätzlich freilich eine gleichzeitige mögliche Reduktion der Flüssigkeitspermeabilität ausgeschlossen werden könnte (169). In diesem Stadium der Erkrankung müssen zusätzlich einige wenige große Membrandefekte auftreten, damit die gesteigerte Durchlässigkeit für große Moleküle zu erklären ist (117). Denn erst solche Defekte könnten eine Aufhebung der Selektivitätseigenschaften der glomerulären Kapillarwand zusammen mit der beeinträchtigten Form- und Größenunterscheidung für große Moleküle bei diabetischer Nephropathie mit massiver Proteinurie und schwerwiegend reduzierter Glomerulärer Filtrationsrate bewirken (10). Als morphologisches Korrelat zu einer solchen fokalen Unterbrechung der glomerulären Membran erscheint einerseits die von Cohen und seinen Mitarbeitern beschriebene Degeneration von Fußfortsätzen der Epithelzellen mit Freilegung der unterliegenden Basalmembran als strukturelle Basis für die hypothetischen großen Membrandefekte plausibel, andererseits aber läßt es dieser morphologische Befund wohl nicht zu, die Genese der Podocyten Degeneration als Ursache oder Folge der Proteinurie zu bewerten (17,96).

Die Entwicklung der Proteinurie wird folglich meist als ein Prozess verstanden, in dem, wie gerade beschrieben, unterschiedliche Determinanten die einzelnen Stadien bestimmen.

Ergänzend sei hier die interessante, aber auch irritierende Diskussion über mögliche hormonelle Einflüsse auf die Proteinurie nicht vergessen: Für funktionelle renale Veränderungen mit gesteigerter Albuminurie nach einer intravenösen Bolusinjektion von Insulin, wurden verschiedene Wirkungsweisen in Betracht gezogen, nämlich einmal eine solche des Insulin- und Glukosespiegels selbst, sodann diejenige kardiovaskulärer Veränderungen aufgrund einer gesteigerten Sympathikusaktivität, und schließlich auch der Einfluß kontrainsulinärer Hormone auf die renale Hämodynamik.

Nach einer intravenösen Injektion oder Infusion von Insulin gingen die Glomeruläre Filtrationsrate und der renale Plasmafluß zurück, während die Albuminurie anstieg, sobald der Blutzuckerspiegel durch die Insulinwirkung absank (13,84,87). Die renale Funktionsveränderung wurde auf eine Sympathikus-aktivierende Wirkung des Insulins zurückgeführt, nachdem man als Folge der Insulinzufuhr einen Pulsanstieg und eine erhöhte Noradrenalin-konzentration im Serum festgestellt hatte. Danach sollten also zirkulatorische und kardiale Effekte des Insulins die Albuminurie beeinflussen (38,103,151).

Sogar ein vermindertes Plasmavolumen wurde infolge einer durch Insulin induzierten gesteigerten Gefäßdurchlässigkeit für Albumin sowohl in der Niere als auch im Körper insgesamt beschrieben (38). Als morphologisches Korrelat zu einem vermehrten Flüssigkeits- und Albumintransfer aus dem Gefäßsystem käme dabei eine vergrößerte Anzahl von Mikropinozytosevesikeln in Betracht, wie sie in Muskelkapillarendothelzellen diabetischer Ratten nach Insulinzufuhr gefunden worden war (95). Jedoch konnten andere Arbeitsgruppen eine Verminderung des Plasmavolumens nach Insulininfusion nicht bestätigen (13,103,151), obgleich auch dort ein Anstieg des Noradrenalinpiegels mit nachfolgender Tachycardie beschrieben wurde.

Neben den potentiellen Folgen der Wirkung des Insulins auf den Kreislauf, wurde natürlich auch der Blutzuckerspiegel im Serum selbst in Hinblick auf die renalen Veränderungen untersucht. Eine gleichzeitige Glukoseinfusion mit signifikanter Blutzuckersteigerung kann den oben beschriebenen renalen Funktionsverlust nach einer Insulininfusion verhindern (13,87), ebenso wie anderer-

seits eine Blutzuckererhöhung durch Glukoseinfusion bei Gesunden und Diabetikern die Glomeruläre Filtrationsrate zu steigern vermag (15). Bei diesen Untersuchungen war der Effekt der Hyperglykämie auf die Niere wahrscheinlich vom metabolischen Zustand vor und während der Untersuchung abhängig (15).

Zu diskutieren ist hier jedoch auch, ob als Voraussetzung dieses Effekts die Glukose selbst eine Rolle spielt, oder aber ob infolge der Glukoseinfusion eine mögliche Expansion des Plasmavolumens, bzw. eine Verminderung des kolloidosmotischen Drucks als Erklärung für die funktionellen renalen Veränderungen in Frage kämen (15). Eine Vermehrung des Plasmavolumens durch Kochsalzinfusion zeigte jedenfalls keine Auswirkungen auf die Glomeruläre Filtrationsrate (15), und eine Senkung der Serumproteinkonzentration bei Ratten hatte keinen Anstieg der Glomerulären Filtrationsrate bewirkt, sondern eher sogar eine Verminderung des Ultrafiltrationskoeffizienten (2). Ein früherer Versuch zeigte nach der Infusion von Glukose und anderen Hexosen eine Steigerung der Glomerulären Filtrationsrate an, die jedoch nicht nach Infusion von Xylose auftrat (33). Hier wurde daher ein osmotischer Effekt der Glukose als Ursache der renalen Funktionsänderung geltend gemacht (33). Eine Beeinflussung der renalen Hämodynamik durch die Serumkonzentration der Glukose selbst spiegelt auch der Befund einer Korrelation zwischen dem Anstieg der Glukagonkonzentration im Plasma und dem der Glomerulären Filtrationsrate nach einer Glukagoninfusion wider (104).

Zur Erklärung der Steigerung der Glomerulären Filtrationsrate durch die Glukose selbst, käme schließlich noch die oben dargestellte tubulo-glomeruläre Balance in Betracht. Die Kompensation des renalen Phosphatverlusts bei tubulärem Glukoseüberangebot im Zustand der Hyperglykämie könnte demnach ja die reversible Erhöhung der Glomerulären Filtrationsrate verursachen (s.o.) Gerade dieses Modell bietet vielleicht die beste Erklärung für die unterschiedlichen Effekte von Glukose und Xylose auf die Nierenfunktion.

Eine durch Insulinzufuhr bewirkte Beeinflussung der Albuminurie scheint nicht in allen Fällen gegeben zu sein (80,38,104, 151). So ist auch eine Abhängigkeit der Albuminurie von der Glomerulären Filtrationsrate nicht in jedem Fall nachzuweisen. Wahrscheinlich kommen also in bestimmten Situationen den Permeabilitätseigenschaften der Membran selbst ein größeres Gewicht in Hinblick auf die Proteindurchlässigkeit zu. Inzwischen scheint festzustehen, daß sich nur Insulin in unphysiologisch hoher Dosierung auf Parameter der Nierenfunktion, wie die Verminderung der Glomerulären Filtrationsrate und die Erhöhung der Albuminausscheidung sowie die vermehrte transkapilläre Albuminpassage auswirkt (13,151).

Eine bei Gesunden beobachtete Steigerung der Albuminurie nach oraler Glukosebelastung (42) könnte unter Umständen als Artefakt durch einen "Auswascheffekt" eines vermehrten Urinvolumens zustande gekommen sein (151).

Abschließend läßt sich festhalten, daß ungeachtet aller Theorien zur Entstehung der Proteinurie die Früherkennung, wie die rechtzeitige Behandlung der noch reversibel vermehrten Mikroalbuminurie fraglos das vordringlichste Ziel bei der Bekämpfung der diabetischen Nephropathie darstellen. Hierbei sollten vor allem die aktuell zu erprobenden Methoden der Therapie, wie etwa Insulininfusions-Dosierautomaten oder Inselzelltransplantationen neue Wege weisen können.

Eine abschließende zusammenfassende Übersicht der derzeitigen Vorstellungen über den Verlauf und die Entwicklung der Nephropathie, zur zusätzlichen Illustration des bisher Gesagten, geben die nachfolgende Tabelle (Tab.2) und Abbildung (Abb.7).

Funktionelle Veränderungen

Stadium	Verlauf	Albuminurie				strukturelle Veränderungen	Blutdruck	Aufhalten bzw. Reversibilität: durch optimale durch Behandlung		Bemerkungen
		GFR	RPF	Dextran-clearance (% der GFR)	basal	belastungsabhängig				
1. frühe Hypertrophie und Überfunktion (vor Insulinbehandlung)	vorhanden bei Diagnosestellung (kam über Jahre bei schlechter Einstellung fortbestehen)	um 20-40% erhöht	normal oder leicht erhöht	normal	erhöht	erhöht (vor Insulintherapie)	Nierenvergrößerung Nephronhypertrophie und -hyperplasie	normal	ja	klin. keine Hypertonie; glomeruläre Veränd. der Mikrozirkulation zu besin. Nephropathie führen, oder den Verlauf ungünstig beeinflussen
2. renale Veränderungen ohne klin. Symptomatik	nach 2 Jahren nachweisbar, Progression über Jahre	um 20-30% erhöht	normal oder leicht erhöht	normal	bei fast allen Pat. normal	nach einigen Jahren verändert	Nierenbiopsie: erhöhte BW-Dicke, mesangiale Expansion → Stadium 3,4	normal	unbekannt (Veränderungen im Stadium 1 reversibel)	Entwicklung einer klin. Nephropathie bei 30-40% der Patienten
3. beginnende diabetische Nephropathie	nach 10-15 Jahren (bei um 20-30% erhöhter Abfall)	immer noch erhöht	beginnender langsamer Abfall	normal	15-300ug/min Anstieg ca. 25ug/min im Jahr	nicht genau untersucht	allmählicher Anstieg, bei Belastung vergrößert	erhöht	wahrscheinlich, (Studien hierzu werden erarbeitet)	oberstes Ziel hier die Nephropathie aufzuhalten
4. klinische diabetische Nephropathie	nach 15-20 Jahren (bei Verminderung um 30-40% der Patienten)	ohne Therapie im Monat	hochnormale Verminderung um 5ml/min	für Therapie im Monat	progressive klin. Nephropathie	nicht untersucht	diffuse und noduläre Glomerulosklerose	erhöht (w160/105)	Progression verlangsamt bei möglichst früher Behandlung (Ziel: 140/85-90 mm Hg)	häufige Blutdruckkontrollen bei allen Diabetikern (neben Augenspiegelung)
5. Endstadium Nierenversagen	Endstadium nach 25-30 Jahren	<10ml/min	niedrig	"	oft vermindert wegen Glomerulumschluß	nicht untersucht	Glomerulumschluß	hoch	nein	in den USA sind 25% aller Pat. mit Nierenversagen Diabetiker

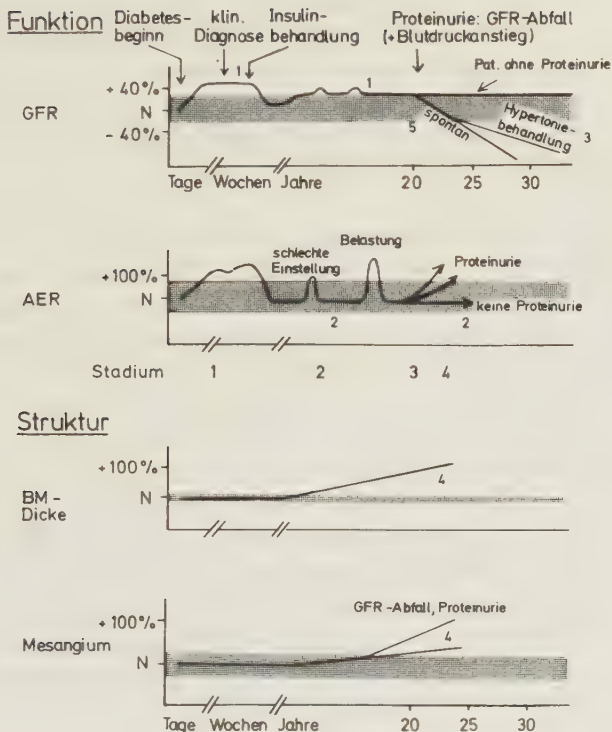


Abb.7: Die chronologische Entwicklung renaler Veränderungen bei Diabetikern (nach 91)
 (schraffierte Bereiche geben die Standardabweichung an; die Zahlen beziehen sich auf die einzelnen Krankheitsstadien, wie sie in Tab.2 beschrieben sind)
 1. In sehr frühen Stadien tritt parallel zur Steigerung der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) eine Nierenvergrößerung auf. 2. frühestens nach 2 Jahren sind erste strukturelle Veränderungen nachweisbar; hier kann eine erhöhte Mikroalbuminurie vorliegen. 3. Die beginnende klinische Nephropathie ist gekennzeichnet von einer leichten oder intermittierenden Albuminurie (AER), die sich bei Belastung verstärkt, sowie einem beginnenden Blutdruckanstieg. 4. Wahrscheinlich gibt es eine große individuelle Variationsbreite in der Ausprägung der renalen Läsionen bei Langzeitdiabetikern.

3. Die radioimmunologische Bestimmung von Albumin im Urin

In Anlehnung an die Methoden der Arbeitsgruppen um Keen (54), Miles (79) und Woo (171) wurde zur Bestimmung der Mikroalbuminurie diabetischer Patienten ein Radioimmunoassay erarbeitet. Da diese Bestimmung nur in wenigen wissenschaftlichen Labors durchgeführt wird und kein fertiger Assay-Kit vorlag, mußte der Assay für das spezielle Anliegen neu im Labor eingeführt und getestet werden.

Das Prinzip dieser Methode beruht auf der kompetitiven Konkurrenz von nicht markiertem bzw. einer konstanten Menge radioaktiv markierten Albumins um die Bindungsstelle an einem Antikörper. Als Antikörper in diesem Versuch diente Kaninchenimmunglobulin gegen menschliches Serumalbumin.

Nach Einstellen eines Gleichgewichts zwischen Antikörper-gebundenem und freiem Albumin geschieht die Isolierung der Antigen-Antikörperkomplexe nach der sogenannten "Doppelantikörper-Methode" durch Präzipitation mit einem Anti-Immunglobulin-Antikörper, in diesem Fall mit Ziegenantikörpern gegen Kaninchen- γ -Globuline.

Die unbekannte Albuminmenge aus der Urinprobe wurde anhand einer Standardkurve bekannter Albuminverdünnungen abgelesen. Als Reagentien dienten fertig gekaufte Antigen- und Antikörperlösungen. Die Jodierung des radioaktiven Tracer-Albumins wurde mittels Enzymobeads^R der Firma BIO-RAD durchgeführt.

3.1. Laborgeräte und Substanzen

- Jenaer Glaswaren
Fa. Schott, 6500 Mainz, Deutschland
- pH-Meter
Fa. L. Püsl, 8000 München, Deutschland
- Waage Mettler P 160
Analysenwaage Typ H 15
Fa. Spoerhase AG, 6300 Gießen, Deutschland
- Hettich Rotixa Standardzentrifuge
7200 Tübingen, Deutschland
- Eppendor fzentrifuge 3200
Eppendorf Mikropipetten
Eppendorf Rotationsmischer
Eppendorf Dosierautomat 5163
Eppendorf Reagenz-Dosierer 5211
Eppendorf Probe-Reagenzdosierer 5232
Eppendorf Gerätebau, Netheler & Hinz GmbH
2000 Hamburg, Deutschland
- Gamma Zähler Modell 1195
SEARL Nuclear Chicago Division, Chicago, USA
- Teletypewriter Modell 1195
Teletype Corporation, Illinois, USA
- Hewlett Packard 21 MX Computer
Hewlett Packard Tischrechner 9815
Hewlett Packard 2748 B Tape Reader
Hewlett Packard 7210 A Digital Plotter
Hewlett Packard 7900 A Disc Drive

Hewlett Packard 13215 A Disc Power Supply
6000 Frankfurt/Main, Deutschland
über Silent 7000 Electronic Data Terminal
Texas Instruments, 8050 Freising, Deutschland

- Organische und anorganische Substanzen

- Fa. Boehringer Mannheim GmbH
6800 Mannheim, Deutschland

- Fa. Behring
6000 Frankfurt/Main, Deutschland

- Fa. Merck
6100 Darmstadt, Deutschland

- Sephadex G-50 fine

Deutsche Pharmacia GmbH, 7800 Freiburg, Deutschland

- Pentex^R-Kaninchenantikörper

Pentex^R-Rinderserumalbumin

Humanserumalbumin

Miles GmbH

6000 Frankfurt, Deutschland

- ¹²⁵Jod, spezif. Radioaktivität: 14.5 mCi

Amersham Buchler GmbH & Co. KG

3300 Braunschweig, Deutschland

- BIO-RAD Enzymobead^R Reagent

BIO-RAD Lab. GmbH

8000 München, Deutschland

- Ziegenantikörper gegen Kaninchen γ -Globuline

Fa. Hoechst AG

6000 Frankfurt/Main, Deutschland

3.2 Methoden

3.2.1. Die Jodierung von Albumin

Die radioaktive Markierung des Albumintracers erfolgte mit Hilfe von Enzymobeads^R. Dabei handelt es sich um mikroskopisch kleine hydrophile Kügelchen, an die in einem bestimmten Verhältnis die beiden Enzyme Glukoseoxidase und Laktatperoxidase angeheftet sind. Mit Hilfe dieser Enzyme wird das gebundene $\text{Na } ^{125}\text{J}$ in freies $^{125}\text{J}_2$ überführt. Mit Luftsauerstoff und durch Glukosezugabe zu der Suspension entsteht im ersten Reaktionsschritt Wasserstoffperoxid unter der katalytischen Wirkung der Glukoseoxidase. Im zweiten Schritt dient Wasserstoffperoxid als Sauerstoffquelle für die Oxidation des Jodid zu Jod. Im weiteren Verlauf reagieren, wie aus der Abbildung ersichtlich (Abb.8), das markierte Jod mit Tyrosylresten des Albuminmoleküls.

Die Jodierung mit Enzymobeads^R erwies sich bei der wiederholten Tracerherstellung als einfach zu handhabende und gut steuerbare Methode, was sowohl die Ausbeute an markiertem Albumin als auch die Durchführbarkeit der Reaktion betraf. Durch den fortgesetzten Peroxidverbrauch bei dieser Reaktion kann keine Denaturierung des Proteins eintreten, wie sie beispielsweise bei anderen Methoden der Jodierung gefürchtet ist (vgl.143). Ferner lassen sich die Enzyme, da sie an feste Partikel gebunden sind, relativ einfach und vollständig vom Reaktionsgemisch durch Abzentrifugieren trennen. Die Isolierung des freien, nicht an Albumin gebundenen Jods vom frisch gewonnenen Tracer-Albumin erfolgt über eine gelchromatographische Auftrennung, in diesem Fall an einer Sephadex G-50 fine Säule.

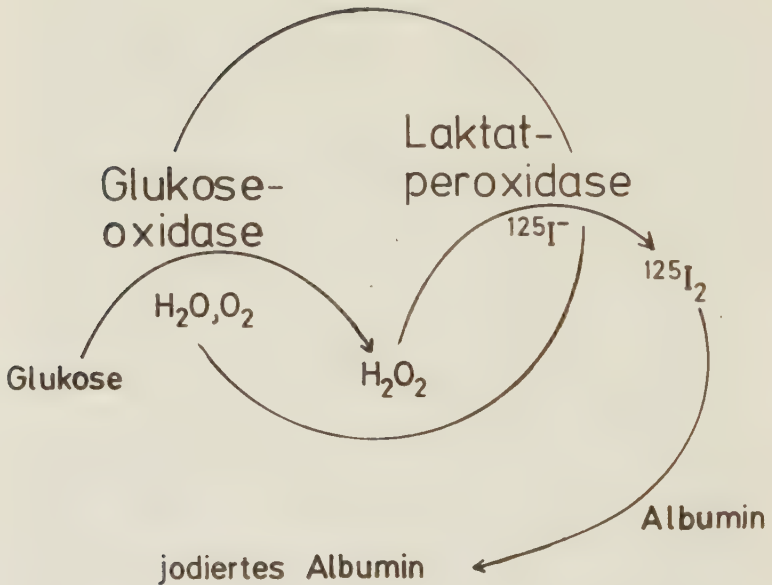


Abb.8: Schematische Darstellung der beiden Reaktionsschritte an einem Enzymobead^R zur Gewinnung des radioaktiv markierten Albumins

3.2.1.1. Lösungen und Substanzen für die Jodierung

PBS:

(phosphate buffered saline), Phosphatgepufferte NaCl-Lösung, pH 7.4, zur Verwendung bei Äquilibrierung und Elution der Chromatographiesäule, im Albuminassay: Assaypuffer (s. dort)

Zusammensetzung:

NaCl	8 g
KCl	0.2 g
Na_2HPO_4	1.15 g
KH_2PO_4	0.2 g
Aqua bidest.	ad 1000 ml

Na/K-Phosphat Puffer:

dieser 0.25 M Puffer, pH 7.2, diente als Reaktionslösung für die Enzymobeads^R.

Zusammensetzung:

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	22.3 g
KH_2PO_4	17.0 g
Aqua bidest.	ad 500 ml

Sephadex G-50 fine^R Gelchromatographiesäule:

Sephadex G-50 fine^R 6 g

Aqua bidest. in ausreichender Menge

ca. 5 Stunden quellen lassen, nach Beschichten der Säule Äquilibrieren mit Elutionsmittel (PBS). Die Säule wird am Tag vor dem Versuch hergerichtet.

HSA:

Human Serum Albumin in der geforderten Konzentration von 2 mg/ml (z.B. 20.50 mg HSA + 10.25 ml PBS), wird am Tag des Versuchs frisch angesetzt.

1% E-D-Glukose:

die Glukoselösung wird in der Konzentration von 10 mg/ml am Versuchstag neu hergestellt. (zB. 28.07 mg Glukose + 2.8 ml Aqua bidest.)

Enzymobeads^R:

die lyophilisierten Enzympelien werden 1 Stunde vor Versuchsbeginn in 0.5 ml Aqua bidest. in der Ampulle rehydriert; 6 Portionen zu je 70 µl können für weitere Jodierungen bei - 20°C eingefroren aufbewahrt werden.

Na¹²⁵J:

für den Versuch wird radioaktives Jod mit einer Aktivität von etwa 1.0 mCi benötigt.

3.2.1.2. Durchführung der Jodierung

Wie aus dem Pipettierschema ersichtlich (Abb.9), werden zunächst 50 µl 0.25 M Na/K-Phosphatpuffer, 25 µl Proteinlösung (entsprechend 50 µg Albumin), 50 µl Enzymobeads^R und 10 µl Na¹²⁵J in ein Plastikgefäß pipettiert.

Die Reaktion wird mit 25 µl 1% iger Glukoselösung gestartet. Nach einer Reaktionszeit von 20 Minuten bei Zimmertemperatur wird die Suspension durch 5minütiges Zentrifugieren getrennt.

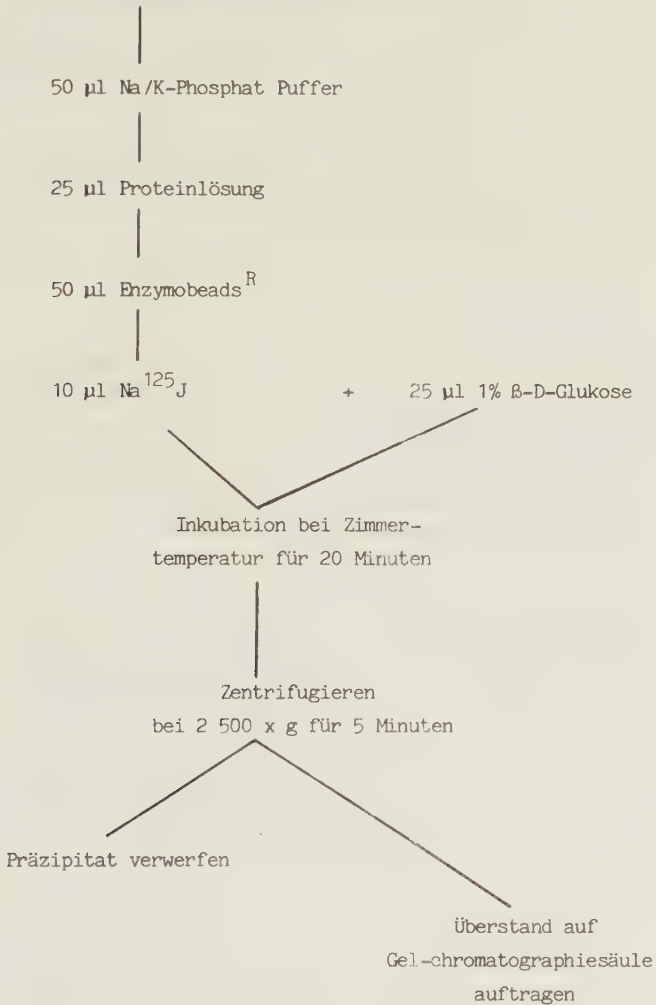
Der Überstand wird auf die Chromatographiesäule aufgetragen.

Zur Elution werden ungefähr 3 ml PBS langsam zugetropft.

Pro aufgefangener Fraktion à 25 Tropfen, ergibt sich pro Röhrchen ein Volumen von 0.7 ml. Die Radioaktivität wird aus jeweils 10 µl der einzelnen Fraktionen im γ-Zähler bestimmt.

Der Inhalt der Röhrchen mit der höchsten Radioaktivität wird gepoolt. das heißt, die Fraktionen mit der höchsten Zählrate werden zusammengeschüttet.

Abb.9: Pipettierschema für die Jodierung



Die Radioaktivität im Pool beträgt ungefähr 800 000 cpm/10 µl.

Eine 1:10 Verdünnung dieser gepoolten Tracer-Fractionen ergibt die Stammlösung für den Versuch (zB. 36 ml PBS + 4 ml Tracer werden zu Proben von je 1 ml in Eppendorffplastikgefäßen eingefroren).

Zum Gebrauch wird die Stammlösung nochmals mit Assay-Puffer auf 1:40 verdünnt, um die gewünschte Aktivität von zirka 20 000 cpm/100 µl zu erhalten. (zB. 0.1 ml Tracer + 3.9 ml Puffer) Die Endverdünnung beträgt somit 1:400.

3.2.2.3. Ergebnis der Jodierung

Die Jodierungsausbeute errechnet sich aus der totalen Aktivität, vermindert um den Anteil des freien ^{125}J und der Restaktivität. Letztere bezeichnet den sehr geringen Anteil radioaktiven Jods, welcher weder an Albumin gebunden, noch im Jodpeak durch die Chromatographiesäule getreten ist (Abb.10). Die Jodierungsausbeute lag jeweils zwischen 60-70%, beispielsweise:

Albuminpeak (^{125}J -Albumin):	5 335 357 cpm	≈	64.6 %
Jodpeak (freies ^{125}J):	2 782 696 cpm	≈	33.7 %
Restaktivität:	<u>+ 125 925 cpm</u>	≈	1.7 %
	8 243 978 cpm	≈	100.0 %

Hieraus läßt sich die in das Protein eingeführte Aktivitätsmenge durch Multiplikation mit dem Faktor ausdrücken, der dem Zerfall des $\text{Na } ^{125}\text{J}$ am Tag der Jodierung entspricht.

In diesem Fall:

$$\frac{64.6}{100} \times 989 = 639 [\mu\text{Ci}]$$

Die spezifische Aktivität, also die pro Albuminmenge eingegebene Radioaktivität beträgt damit:

$$\frac{639 \mu\text{Ci}}{50 \mu\text{g Albumin}} = 12.8 \mu\text{Ci}/\mu\text{g Albumin}$$

Da jedoch aus dem Proteinpeak von 5 335 357 cpm nur 4 158 263 cpm gepoolt wurden, entspricht dies, bei einer Albuminzugabe von 50 μg , einer in der gepoolten Lösung enthaltenen Albuminmenge von 77.9%.

Also sind in 4 ml Lösung 38.95 μg Albumin enthalten.

In 1 ml beträgt die Albuminmenge : 9.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$

in der Stammlösung (1:10): 0.97 $\mu\text{g}/\text{ml}$

und in der Endverdünnung für den Assay: 24 ng/ml

Für den Versuch werden 100 μl Tracer benötigt; pro Versuchsansatz also 2.4 ng Albumin. Da 1 μg Albumin $\hat{=}$ 12.8 μCi , beträgt die Aktivität pro Röhrchen 0.030 μCi .

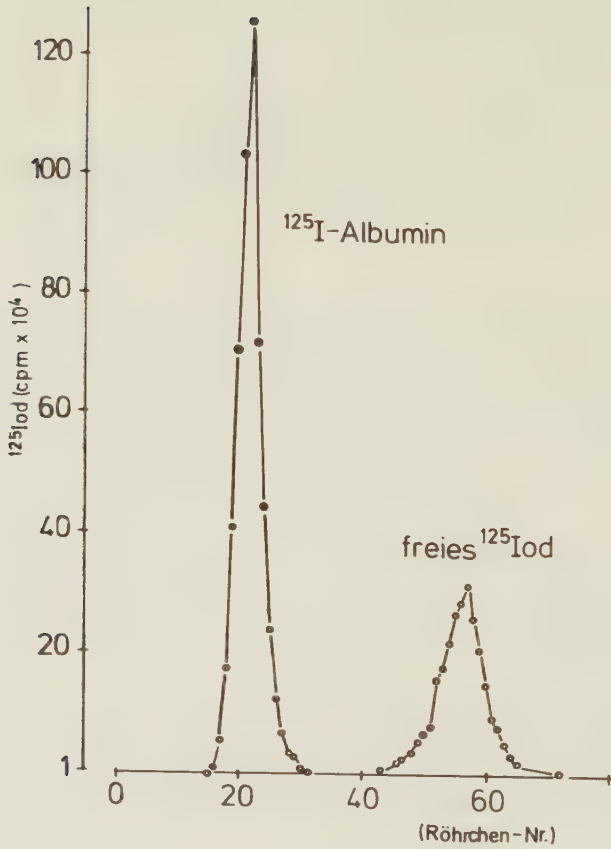


Abb. 10: Gewinnung des radioaktiv markierten Albumins

● kennzeichnet die Albuminfraktionen mit der höchsten Zählrate, die für die Versuche gesammelt und weiterverwendet wurden.

3.2.2. Der Radioimmunoassay für Albumin

Lösungen:

PBS:

Die phosphatgepufferte NaCl-Lösung (Zusammensetzung s.o.) dient der Herstellung des Assaypuffers, sowie der Herstellung des Waschpuffers.

0.01 g% BSA in PBS:

(Bovine Serum Albumin) Rinderserumalbumin in PBS gelöst, dient als Assaypuffer zum Ansetzen des Tracers, des Antikörpers und zur Anfertigung der Standardverdünnungen sowie zur Verdünnung der Urinproben. Die Zugabe von BSA zum Puffer verhindert eine sonst mögliche Adhäsion von Reagentien an den Wänden von Glasgefäßen (vgl. 79, 171).

Herstellung:

BSA	10 mg
PBS	ad 100 ml

Antikörper:

Kaninchen-Antikörper gegen menschliches Serumalbumin wird mit Assaypuffer in der Verdünnung 1:100 als Stammlösung angesetzt und in Mengen von je 1 ml in Eppendorfgläsern eingefroren aufbewahrt. Die passende Endverdünnung mit einer Bindungskapazität von über 50% wird in Vorversuchen nach jeder Jodierung bestimmt (Verdünnungsschema s.u.)

Herstellung der Stammlösung:

Kaninchen-Immunglobuline	0.1 ml
Assaypuffer	9.9 ml

Tracer:

die 1:10 verdünnte eingefrorene Stammlösung (Herstellung s. Jodierung) wird zum Gebrauch auf 1:40 mit Assaypuffer verdünnt.

Herstellung:

Albumintracer	0.1 ml
Assaypuffer	3.9 ml

Waschpuffer:

Kaninchen- γ -Globuline im sogenannten Waschpuffer dienen der Sichtbarmachung des Antigen-Antikörper Präzipitats.

Herstellung:

Kaninchen- γ -Globulin	1 ml
PBS	ad 10 ml

ergibt eine 1%ige Stammlösung. Proben von jeweils 1 ml werden eingefroren aufbewahrt und für den Versuch weiter verdünnt:

Kaninchen- γ -Globulinlösung (1:10)	1 ml
PBS	ad 50 ml

Zweiter Antikörper:

Ziegenantikörper gegen Kaninchen- γ -Globuline dient als zweiter Antikörper der Isolierung der Antigen-Antikörper Komplexe. Zur Auflösung einer Portion des lyophilisierten Antikörpers werden 12.5 ml PBS in das Aufbewahrungsgefäß pipettiert.

Albumin-Standardproben:

Herstellung der Stammlösung:

Humanalbumin	1 mg
Assaypuffer	ad 10 ml

Die gewonnene Lösung mit einer Albuminkonzentration von 100 μ g/ml wird 1:10 mit PBS verdünnt (zB. 2 ml Albuminlösung + 18 ml PBS). In der nun vorliegenden Konzentration von 10 μ g Albumin/ml werden Einzelproben zu jeweils 0.7 ml in Plastikgefäßen bis zur Weiterverwendung eingefroren aufbewahrt.

Albumin-Standardverdünnungen:

- a) Stammlösung : 10 µg/ml = 1 000 ng/100 µl
- b) 100 ng/100 µl (1:10 a) zB: 200 µl a + 1 800 µl Assaypuffer
- c) 50 ng/100 µl (1:20 a) zB: 100 µl a + 1 900 µl Assaypuffer
- d) 25 ng/100 µl (1:40 a) zB: 50 µl a + 1 950 µl Assaypuffer
- e) 10 ng/100 µl (1:10 b) zB: 100 µl b + 900 µl Assaypuffer
- f) 5 ng/100 µl (1:10 c) zB: 100 µl c + 900 µl Assaypuffer
- g) 2.5 ng/100 µl (1:10 d) zB: 100 µl d + 900 µl Assaypuffer
- h) 1.0 ng/100 µl (1:10 e) zB: 100 µl e + 900 µl Assaypuffer
- i) 0.5 ng/100 µl (1:10 f) zB: 100 µl f + 900 µl Assaypuffer

Urinproben-Verdünnungsreihe:

- a) 1: 10 zB: 1 ml Urin + 9 ml Assaypuffer
- b) 1: 20 (1:2 a) zB: 0.3 ml a + 0.3 ml Assaypuffer
- c) 1: 40 (1:4 a) zB: 0.1 ml a + 0.3 ml Assaypuffer
- d) 1: 50 (1:5 a) zB: 0.2 ml a + 0.8 ml Assaypuffer
- e) 1:100 (1:2 d) zB: 0.3 ml d + 0.3 ml Assaypuffer
- f) 1:200 (1:10 b) zB: 0.1 ml b + 0.9 ml Assaypuffer
- g) 1:500 (1:10 d) zB: 0.1 ml d + 0.9 ml Assaypuffer

Antikörper-Verdünnungen:

- a) Stammlösung: 1:100
- b) 1: 1 000 (1:10 a) zB: 0.5 ml a + 4.5 ml Assaypuffer
- c) 1: 5 000 (1: 5 b) zB: 0.2 ml b + 0.8 ml Assaypuffer
- d) 1:10 000 (1:10 b) zB: 0.5 ml b + 4.5 ml Assaypuffer
- e) 1:25 000 (1:2.5 d) zB: 0.2 ml d + 0.3 ml Assaypuffer
- f) 1:50 000 (1: 5 d) zB: 0.2 ml d + 0.8 ml Assaypuffer
- g) 1:75 000 (1:7.5 d) zB: 1.0 ml d + 0.9 ml Assaypuffer

3.2.2.2. Die Durchführung des Assays

Alle Werte wurden in doppelten Bestimmungen gemessen, dabei wurden alle Urinproben in jeweils drei Verdünnungsstufen angesetzt. Der ausgewählte Bereich der Verdünnung richtete sich dabei immer nach dem Ergebnis des Urin-Teststreifentests.

Wie im Pipettierschema (Abb.11) dargestellt, wurden zu je 0.1 ml der Standardverdünnung bzw. der Urinverdünnung je 0.1 ml ^{125}J -Albumin und 0.1 ml Antiserum pipettiert. Die Antikörperverdünnung betrug, abhängig von der jeweiligen Bindungskapazität in der Regel 1:25 000 (s.u.).

Der Reihenfolge nach waren die Ansätze folgendermaßen geordnet:

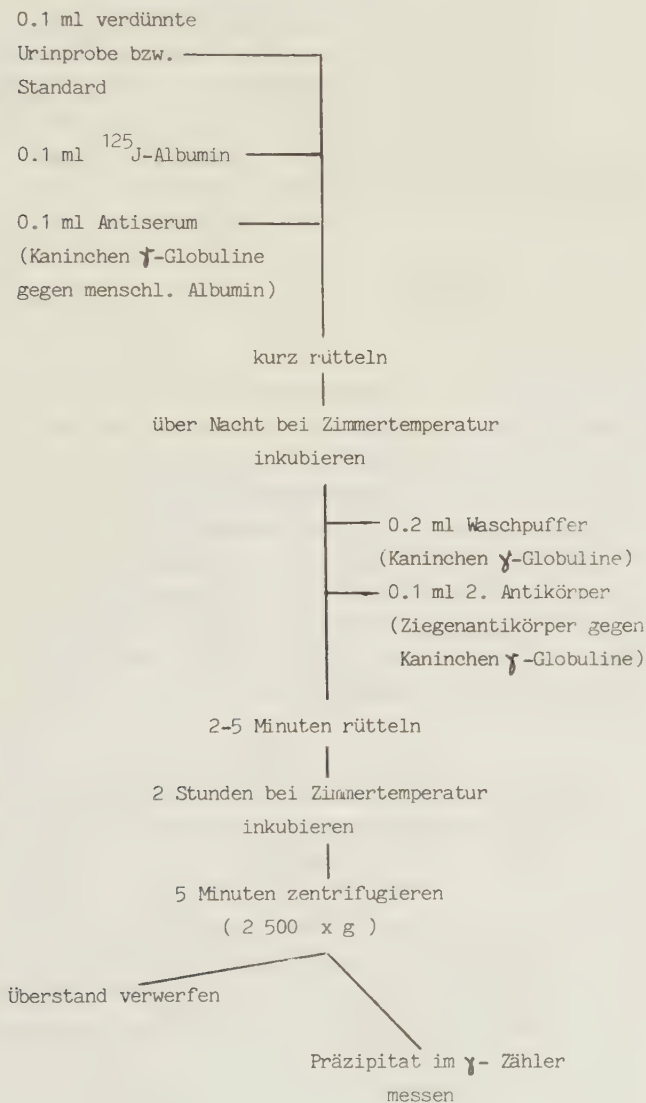
1. Totale Radioaktivität (nur jeweils 0.1 ml Tracer)
2. Unspezifische Bindung (0.2 ml Assaypuffer + 0.1 ml Tracer)
3. Nullwert (anstelle der Probe oder des Standards kamen 0.1 ml Assaypuffer zum Reaktionsgemisch)
4. Standards in ansteigender Konzentration
5. Urinproben in drei Verdünnungsstufen

Dieser Ansatz wurde über Nacht bei Zimmertemperatur inkubiert.

Zur Präzipitation des Antikörper-Tracer Komplexes kamen am nächsten Tag 0.2 ml Waschpuffer, sowie 0.1 ml des 2. Antikörpers hinzu. Das Reaktionsgemisch wurde 2-5 Minuten lang gerüttelt und für weitere 2 Stunden bei Zimmertemperatur inkubiert. Die Trennung des Gemischs erfolgte durch 5 minütiges Zentrifugieren in der Tischzentrifuge, danach wurde der Überstand mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt.

Die Messung der Radioaktivität des Niederschlags am Boden der Eppendorfgefäße erfolgte im γ -Zähler. Die Albuminkonzentrationen wurden, sobald in größerem Umfang gemessen werden konnte, über den Computer ausgewertet, die ersten Ergebnisse wurden anhand gezeichneter Standardkurven abgelesen.

Abb.11: Pipettierschema des Albuminassays:



3.2.2.3. Ergebnisse des Albuminassays

3.2.2.3.1. Die Bestimmung der Bindungskapazität

Für eine optimal empfindliche Eichkurve muß die Bindungskapazität des Antikörpers zwischen 40-60 % liegen (41,79,171). Sie gibt den Prozentsatz an radioaktiv markiertem Albumin an, der in Abwesenheit von Standard- oder Proben-Albumin vom Antikörper gebunden wird, und errechnet sich nach der Formel:

$$BK = \frac{\text{Zählrate B}}{\text{Zählrate}} \times 100 \quad (\%)$$

Da die Zahl der Albuminbindungsplätze am Antikörper für die Reaktion limitierend ist, bestimmt, bei gleicher Affinität und Bindungskinetik von freiem und radioaktiv markiertem Albumin, allein die Menge des freien Albumins den Anteil des markierten Tracer-Albumins, der sich an den Antikörper koppelt.

Bei verschiedenen Antikörperverdünnungen ergab sich eine optimale Bindungskapazität in der Regel bei einem Antikörpertiter von 1:10 000 oder 1:25 000. Die Bindungskapazität lag im Durchschnitt bei $50.09 \pm 8.75 \%$. Damit verlief die Eichkurve genügend steil, um eine gute Punktediskriminierung im gewünschten Meßbereich zu gewährleisten.

3.2.2.3.2. Wahl des geeigneten Assaypuffers:

Der Assaypuffer wurde sowohl mit Kaninchen γ -Globulinen, als auch mit Rinderserumalbumin angesetzt. Ein solcher Proteinzusatz in geringen Mengen zum Reaktionsgemisch ist notwendig, um eine Adhäsion des Tracers an die Glaswand zu verhindern. Im direkten Vergleich beider Pufferansätze ergab sich für 0.01 %iges Rinder-serumalbumin (BSA) in PBS eine höhere Bindungskapazität als mit Kaninchen- γ -Globulinzusatz. Daraus wurde geschlossen, daß Kaninchen- γ -Globuline eher die Reaktion zwischen Tracer und Antikörper stören als Rinderalbumin. Aus der Literatur geht hervor, daß Rinderalbumin in der verwendeten Konzentration keine Kreuzreaktionen mit dem Antikörper hervorruft (79,171).

3.2.2.3.3. Isolierung des Antigen-Antikörper Komplexes

Am schwierigsten gestaltete sich die Ausfällung des Tracer-Antikörper Komplexes. Mißglückte Standardkurven zu Beginn der Versuchsreihen waren wohl in erster Linie darauf zurückzuführen, daß sich, bei zu niedriger Konzentration des Waschpuffers, kein eindeutiges Präzipitat in den Reaktionsgefäßen niederschlug, und somit das Absaugen zur Verwerfung des Überstands ungenau ausfiel. Durch die Variation der Inkubationszeiten und der Umgebungstemperatur, sowie der Erhöhung der Immunglobulinkonzentration im Waschpuffer, stellten sich schließlich für die Versuche die oben angegebenen Reaktionszeiten bei Zimmertemperatur als optimale Reaktionsbedingungen heraus.

3.2.2.3.4. Meßbereich des Assays

Die Gesamtradioaktivität pro Assay betrug zwischen 21 665 cpm und 15 985 cpm, je nach Alter des Tracers. Bei höherer oder geringerer Aktivität mag eine Proteindenaturierung des Tracermoleküls, entweder bei zu altem Tracer, oder bei einer zu großen initialen Strahlungsintensität, eine optimale Bindungskinetik verhindert haben. Hierdurch erwiesen sich anfänglich einige Kurven als unbrauchbar. Die unspezifische Bindung machte in solchen Fällen bis zu 40 % aus. Nach Woo und seinen Mitarbeitern wäre dies ein typischer Befund bei denaturiertem markiertem Antigen (170).

In den korrekt ausgeführten Assays betrug die mittlere unspezifische Bindung $4.24 \pm 0.39 \%$.

Die Empfindlichkeit der Eichkurve ($B/B_0 = 80 \%$) lag bei 5 ± 3 ng, der Bereich der größten Präzision des Assays ($B/B_0 = 50\%$) lag bei 24 ± 4 ng.

3.2.2.3.5. Präzisionskontrollen

Anhand von 2 verschiedenen Urinproben wurden in 12 aufeinanderfolgenden Untersuchungen eine Präzisionskontrolle von Tag zu Tag durchgeführt. Der Mittelwert der Bestimmungen betrug 17.6 ± 0.8 ng/100 μ l beziehungsweise 30.4 ± 1.8 ng/100 μ l. Der jeweilige Variationskoeffizient (VK) von 4.8% bzw. 6.0% zeigt für den Assay eine ausreichende Genauigkeit an (s.Tab.3).

Ferner wurde für den Versuch auch die Präzision in der Serie mit Hilfe von 3 unterschiedlichen Proben jeweils 6fach erstellt. Die Variationskoeffizienten von 8.1%, 5.1% und 5.4% zeigen, daß der Assay mit zuverlässiger Genauigkeit im Meßbereich lag (s.Tab.4).

3.2.2.3.6. Wiederfindungsversuch

Um die Meßgenauigkeit zu überprüfen, wurden 6.25 - 50 ng Albumin zu Urinproben bekannter Albuminkonzentrationen hinzugegeben. Die Abweichung vom erwarteten Wiederfindungswert betrug durchschnittlich 5.1 % (s.Tab.5).

3.2.2.3.7. Serienmäßige Urinverdünnungen

Zur Überprüfung der Gültigkeit des Assays konnte ferner gezeigt werden, daß die Standardkurve und 5 bzw. 7 serienmäßig verdünnte Urine mit der Eichkurve deckungsgleich verliefen (s.Abb.12).

Tab.3: Präzision von Tag zu Tag (n = 12)

	Einzelwerte (ng/100 µl)	Mittelwert (ng/100 µl)	Variations- koeffizient(%)
Urin 1:	17.4, 18.2, 17.9, 16.5, 18.0, 18.9, 17.3, 15.9, 17.7, 18.4, 17.9, 16.8,	17.6 ± 0.8	4.8
Urin 2:	30.7, 28.2, 28.6, 31.5, 29.6, 32.0, 30.2, 28.9, 27.6, 31.2, 33.4, 32.5,		

Tab.4: Präzision in der Serie (n = 6)

	Einzelwerte (ng/100 µl)	Mittelwert (ng/100 µl)	Variations- koeffizient(%)
Probe 1:	6.5, 7.1, 6.2, 6.9, 5.9, 7.3,	6.6 ± 0.5	8.2
Probe 2:	23.9, 21.0, 24.3, 22.6, 23.4, 22.5,		
Probe 3:	14.7, 13.9, 16.2, 15.6, 14.5, 15.1,	15.0 ± 0.8	5.5

Tab.5: Albuminwiederfindung

Urine	Urinkonz. ng/100 µl	Albuminzugabe ng/100 µl	erwartet ng/100 µl	gemessen ng/100 µl	Abweichung %
I.1.	27.32	50	77.32	74.69	3.4
2.	16.08	25	41.08	39.30	4.3
3.	9.56	12.5	22.06	20.70	6.2
4.	3.08	6.25	9.33	8.84	5.3
II.1.	26.92	50	76.92	75.36	2.0
2.	10.91	25	35.91	38.16	6.2
3.	5.31	12.5	17.61	19.21	9.1
4.	2.94	6.25	9.19	8.77	4.6

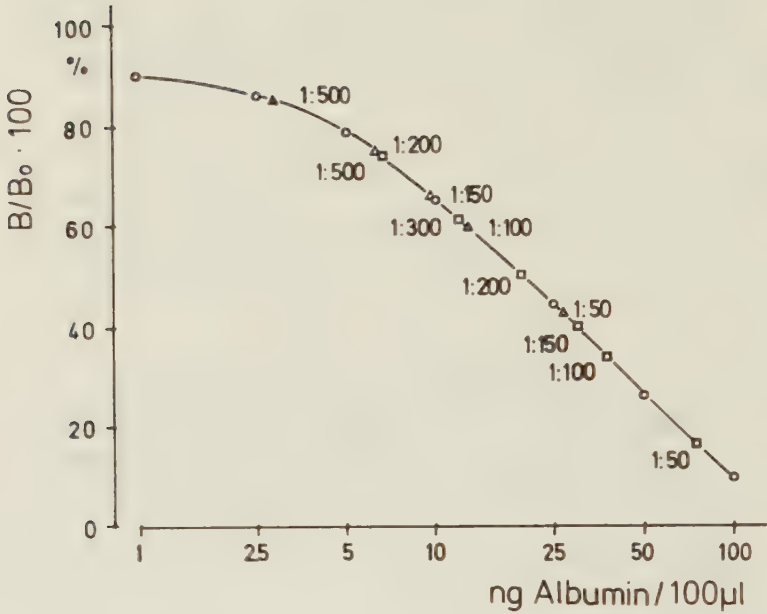


Abb.12: Beispiel einer Standardkurve

○: Standardproben in ansteigender Konzentration von 1-100 ng Albumin/ 100 µl

In einer Verdünnungsreihe wurden die jeweiligen Konzentrationen von 2 verschiedenen Urinproben (Δ, □) bestimmt. Die einzelnen Meßpunkte verlaufen deckungsgleich mit der Standardkurve

3.2.3. Klinische Erprobung des Albuminassays

Erste, exemplarisch durchgeführte Versuche dienten zum Vergleich der Ergebnisse, die der neu eingeführte Test erbracht hatte, mit den Resultaten aus der Literatur sowie zur Vorbereitung klinischer Versuchskonzepte für größer angelegte Studien. Im Verlauf der Arbeit mußte von einer intensiveren Anwendung der radioimmunologischen Bestimmung der Albuminurie abgesehen werden, als die Entwicklung der nephelometrischen Methode erkennen ließ, daß dem Institut hiermit ein einfacherer aber genauso empfindlicher Test zur Messung der Albuminausscheidung von Diabetikern zur Verfügung stehen würde.

3.2.3.1. Bestimmung der Mikroalbuminurie bei Gesunden

Zunächst wurde bei insgesamt 8 gesunden Probanden die normale basale Albuminexkretionsrate bestimmt. Für die Auswertung wurde die jeweils gemessene Albuminkonzentration in der Probe, bezogen auf die Zeitspanne, die seit der letzten Blasenentleerung vergangen war, umgerechnet auf die Exkretionsrate pro Minute, sowie auf die Ausscheidung pro 24 Stunden, damit ein Vergleich mit den Daten aus der Literatur möglich wurde.

Die gemessenen Exkretionswerte lagen zwischen 3.5 - 8.5 mg/24h, bzw. bei 2.4 - 5.9 $\mu\text{g}/\text{min}$. Die Arbeitsgruppe um Woo, sowie Miles und Mogensen fanden Normalwerte zwischen 2.2 - 12.6 mg/24h, also 1.51 - 8.75 $\mu\text{g}/\text{min}$ (171,79). Ihre Angaben konnten somit bestätigt werden.

3.2.3.2. Bestimmung der Mikroalbuminurie bei Diabetikern

Nachdem im theoretischen Teil bereits mögliche Mechanismen einer gesteigerten Proteinurie dargestellt wurden, sei dem folgenden Abschnitt zum nötigen Verständnis kurz vorausgeschickt, in welchen Dimensionen von einer erhöhten Basalrate der Albuminaus-

scheidung zu sprechen ist, und ab wann eine persistierende klinische Proteinurie besteht:

Wie aus der Tabelle nach Mogensen ersichtlich (s.Tab.2), kann bei vielen Diabetikern die Albuminurie sehr lange im Normbereich bleiben. Die Festlegung des Grenzbereichs einer bereits gesteigerten Albuminurie wird unterschiedlich streng vorgenommen: Während Mogensen den pathologischen Bereich ab $15 \mu\text{g}/\text{min}$ viel leicht doch etwas zu eng an der oberen Grenze der Normalwerte ansetzt (92), beschreibt Viberti ein erhöhtes Nephropathierisiko ab Werten von über $30 \mu\text{g}/\text{min}$ im Morgenurin (152). Diese Angabe stimmt in etwa mit der Definition von Parving überein, der eine normale Albuminurie bei Werten von unter $40 \text{ mg}/24 \text{ h}$, also etwa $28 \mu\text{g}/\text{min}$ festlegt (109).

Ein einfach zu handhabender semi-quantitativer Teststreifen-test kann ab circa $30 \text{ mg Protein}/100 \text{ ml Urin}$ einen positiven Befund anzeigen (zB. der Combur^R-Test der Firma Boehringer). Von einer klinischen Proteinurie wird ja erst dann gesprochen, wenn die Proteinausscheidung mit einfachen Tests deutlich nachweisbar ist. Dabei setzt man in der Regel die Grenze bei einer Proteinausscheidung von über $0.3 - 0.5 \text{ g}/24\text{h}$ an. Damit von einer klinisch persistierenden Proteinurie gesprochen werden kann muß auch nach 3 oder mehr aufeinanderfolgenden Untersuchungen in einem Intervall von jeweils 3 - 4 Monaten eine positive Eiweißausscheidung anhand des Teststreifens konstant nachweisbar bleiben (90,92,105,109,152). Neuerdings bestimmt Viberti den Grenzwert der klinischen Proteinurie bereits bei einer Ausscheidungsrate von $150 \text{ mg}/24\text{h}$ (154). Hierin mag sich die Entwicklung empfindlicherer Teststreifen und ihre inzwischen sogar mögliche quantitative Auswertung widerspiegeln.

3.2.3.2.1. Tägliche Messung der basalen Albuminausscheidung

Das Ziel dieser engmaschig durchgeführten Bestimmung der Albuminexkretionsrate bei 6 stationär eingewiesenen Patienten war es, aufzuweisen, inwieweit sich die einzelnen Bestimmungen der Albuminurie reproduzieren ließen, oder aber inwieweit sich hier eine Abhängigkeit von akuten Einflüssen der Stoffwechselein-
stellung bzw. der körperlichen Aktivität, (-letztere eventuell
erkennbar an einem Tag/Nacht-Rhythmus der Albuminurie) ergeben
würde.

6 insulinpflichtige Diabetiker mit unterschiedlich langer
Diabetesdauer und jeweils klinisch unauffälligem Nierenbefund
waren ohne Aufstellung sonstiger Auswahlkriterien für die Unter-
suchung ausgewählt worden. Der Grund ihres Krankenhausaufent-
haltes lag ausnahmslos in der Notwendigkeit, die bisherige
Therapie neu zu überprüfen und den Stoffwechsel möglichst optimal
einzustellen. Einer dieser Patienten wurde aus diesem Grund mit
einem tragbaren Insulindosiergerät mit kontinuierlicher Insulin-
infusion behandelt.

Wie aus den Tabellen (Tab. 6-11) ersichtlich, erfolgten die
Probenentnahmen für die Bestimmung der Albuminurie an mindestens
6 aufeinanderfolgenden Tagen während des Krankenhausaufenthalts,
wobei je 2 Portionen des täglichen Sammelurins einer Sammelperio-
de zwischen 6⁰⁰- 18⁰⁰ (Probe I), bzw. von 18⁰⁰- 6⁰⁰ (Probe II)
entsprachen. Daneben wurden während dieser Zeit täglich mindestens
drei Blutzuckerbestimmungen durchgeführt. Der Mittelwert der
Glukosekonzentrationen im Plasma während des Tages und ein in den
meisten Fällen als repräsentativ erachteter Einzelwert für die
II. Sammelperiode wurden in Bezug gesetzt zur Albuminausscheidung.
Hierbei zeigte sich bei keinem Patienten eine Korrelation beider
Werte, sondern die Albuminurie war bei den einzelnen Personen
während der gesamten Beobachtungszeit relativ konstant. Genauso-
wenig, wie eine Beziehung zur akuten Stoffwechselsituation nach-
gewiesen werden konnte, zeigten die Ergebnisse eine Verminderung
der Albuminurie während der Nacht, d.h. im Liegen war die basale
Albuminausscheidung nicht geringer als tagsüber. In der Literatur

wird der mögliche Einfluß der Körperposition, als auch der körperlichen Tätigkeit auf eine leicht erhöhte basale Proteinurie beschrieben (111). Bei der Interpretation dieses Ergebnisses könnte allerdings geltend gemacht werden, daß die Patienten in der Klinik wahrscheinlich nur in eingeschränktem Maß körperlich aktiv waren.

Auch das Urinvolumen scheint anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht mit dem Ausmaß der Albuminurie in Zusammenhang zu stehen (vgl. Tab 6-11). Dieser Befund erscheint wichtig für die Interpretation von Einzeldaten bei Diabetikern mit Polyurie. Viberti beschrieb beispielsweise eine gesteigerte Albuminurie, sozusagen als "Auswascheffekt", bei Gesunden unter forcierter Diurese, nach Zufuhr hoher Mengen von Flüssigkeit (144).

Nachdem das Ausmaß der Albuminurie über die 6 Tage relativ konstant blieb, könnte man daraus schließen, daß bereits einzelne individuelle Werte als repräsentativ angesehen werden können. Ungeachtet einer langen Diabetesdauer von mindestens 9 Jahren, waren bei 4 Patienten die Werte der Albuminurie völlig im Normalbereich. Eine normale Albuminurie trotz sehr lange bestehendem Diabetes wird auch in der Literatur beschrieben (101).

Mogensen berichtet allerdings von einer gesteigerten Albuminausscheidung bei Diabetikern mit unzureichender Stoffwechseleinstellung, oder bei Patienten, deren Erkrankung erst neu entdeckt wurde und die deshalb noch nicht behandelt worden waren (92,). Der Befund einer vermehrten Proteinausscheidung vor dem Einsetzen einer adäquaten Therapie konnte im vorliegenden Versuch nicht bestätigt werden: Im Gegenteil zeigte der Patient R.K. mit neu entdecktem Diabetes eine normale Albuminurie (Tab. 6). Als Erklärung hierfür bietet sich eventuell an, daß eine noch relativ gut kompensierte Stoffwechsellaage, dank einer verbliebenen Restaktivität der β -Zellen, abzulesen an den ersten Blutzucker und Harnzuckerwerten, eine gravierendere Beeinträchtigung des Organismus und somit auch der Nierenfunktion verhindert haben könnte. Vor dem Einsetzen der Insulintherapie nämlich war dieser Patient über einen kurzen Zeitraum mit einem

oralen Antidiabetikum behandelt worden.

In dieser Patientengruppe wies nur ein Patient, und zwar (W.O.) eine deutlich erhöhte Mikroalbuminurie auf (Tab. 11). Bemerkenswert ist in diesem Fall der Rückgang der Albuminurie durch die gewählte Therapie. Der Durchschnittswert der Albuminausscheidung unter optimaler Therapie mit dem Insulindosiergerät liegt mit 85.25 ug/min deutlich niedriger als bei konventioneller Therapie (215 ug/min). Viberti beobachtete einen ähnlichen deutlichen Rückgang der Albuminurie bei Langzeitdiabetikern nach nur dreitägiger kontinuierlicher subkutaner Insulininfusion (101). Im Vergleich einzelner Blutzuckerwerte mit der Albuminurie läßt sich bei W.O. keine Korrelation dieser beiden Parameter erkennen, zudem ist freilich innerhalb von 10 Tagen keine Normalisierung der Albuminurie zu erzielen. Es erscheint zudem fraglich, ob sie im vorliegenden Fall überhaupt noch erreicht werden kann. Derzeit lassen sich an diesen Befund keine weiteren Interpretationen knüpfen. Um wichtige Informationen hinsichtlich der Bewertung des prognostischen Faktors "Albuminurie" zu erhalten, erscheint die langfristige Kontrolle der Proteinurie dieser Patienten jedoch sicher lohnend.

Tab.6: Tägliche Albuminurie bei R.K. (Alter: 32 J.; ♂; frisch entdeckter Diabetes mellitus)

Urin	Harnmenge ml	AER		Harnzucker g/100ml	Aceton +/-	Blutzucker mg/100ml
		µg/ml	µg/min			
I.	700	1.3	2.5	-	-	121
II.	800	1.8	4	-	-	112
I.	500	1.7	2.4	7.5	-	253
II.	1100	2.4	7.3	3.3	-	150
I.	850	0.89	2.1	-	-	168
II.	500	1.25	1.7	1.0	-	87
I.	1000	1.45	4.0	3.0	-	241
II.	1200	0.55	1.8	-	-	116
I.	650	2.35	4.2	-	-	143
II.	500	0.73	1.0	-	-	205
I.	900	0.63	1.6	4.5	-	196
II.	800	0.5	1.1	0.8	-	213
I.	1400	0.3	1.2	-	-	117
II.	600	1.25	2.1	-	-	130

I., II.: Urine der jeweiligen Sammelperiode von 12 Stunden
AER: Albuminexkretionsrate

Tab.7: Tägliche Albuminurie bei B.A. (Alter: 40 J.; ♀; Diabetesdauer: 29 J.)

Urin	Harnmenge ml	AER		Harnzucker g/100ml	Aceton +/-	Blutzucker mg/100ml
		µg/ml	µg/min			
I.	600	16.2	13.5	20	+++	216
II.	800	8.6	9.5	13.2	+	200
I.	300	31.7	13.2	11.5	+	200
II.	750	7.8	8.1	10.7	+	223
I.	160	28.7	6.4	0.5	-	168
II.	250	29.3	10.1	-	-	125
I.	250	20.7	7.2	0.9	-	141
II.	900	8.9	11.1	2.0	(+)	140
I.	400	22.2	12.3	4.1	-	157
II.	350	25.6	12.4	-	-	132
I.	100 (6h)	31.0	4.3	-	-	107
II.	800	4.7	5.2	1.0	-	109

I., II.: Urine der jeweiligen Sammelperiode von 12 Stunden
AER: Albuminexkretionsrate

Tab. 8: Tägliche Albuminurie bei A.E. (Alter: 37 J.; ♀; Diabetesdauer: 12 J.)

Urin	Harnmenge ml	AER		Harnzucker g/100ml	Aceton +/-	Blutzucker mg/100ml
		µg/ml	µg/min			
I.	250	21.8	7.6	-	(+)	171
II.	250	57.0	19.8	1.0	(+)	196
I.	100	38.8	5.4	-	(+)	144
II.	180	19.4	4.9	-	(+)	113
I.	200	19.9	5.5	-	-	169
II.	350	20.0	9.7	-	-	96
I.	150	24.1	5.0	-	-	159
II.	400	12.7	7.1	-	-	122
I.	300	20.1	8.4	-	-	136
II.	500	19.5	13.5	-	-	128
I.	600	19.0	15.8	-	-	119
II.	550	18.3	13.9	-	-	122

I., II.: Urine der jeweiligen Sammelperiode von 12 Stunden

AER: Albuminexkretionsrate

Tab. 9: Tägliche Albuminurie bei R.B. (Alter: 51 J.; ♀; Diabetesdauer: 13 J.)

Urin	Harnmenge ml	AER		Harnzucker g/100ml	Aceton +/-	Blutzucker mg/100ml
		µg/ml	µg/min			
I.	1250	0.8	2.8	36.3	+	445
II.	700	3.5	6.8	-	-	171
I.	1800	0.56	2.8	8.4	(+)	134
II.	700	3.0	5.8	-	-	204
I.	1000	1.4	3.9	-	-	235
II.	500	3.34	4.6	-	-	124
I.	2300	0.45	2.9	-	-	175
II.	700	1.8	3.5	-	-	111
I.	3350	0.32	3.0	2.6	-	179
II.	1500	1.21	5.0	1.0	-	200
I.	1900	1.66	8.8	-	-	91
II.	550	2.3	3.5	-	-	86

I., II.: Urine der jeweiligen Sammelperiode von 6 Stunden

AER: Albuminexkretionsrate

Tab. 10: Tägliche Albuminurie bei K.R. (Alter: 16 J.; ♂;
Diabetesdauer: 9 J.)

Urin	Harnmenge ml	AER		Harnzucker g/100ml	Aceton +/-	Blutzucker mg/100ml
		µg/ml	µg/min			
I.	600	1.68	1.4	39.0	-	286
II.	1000	1.74	2.4	72.0	-	375
I.	500	1.17	0.8	33.5	-	289
II.	700	4.34	4.2	45.5	-	190
I.	600	3.60	3.0	12.0	-	213
II.	400	8.05	4.5	11.2	+	126
I.	500	3.05	2.1	5.5	-	274
II.	200	6.39	1.8	-	-	247
I.	1100	3.48	5.3	16.5	-	210
II.	500	8.97	6.2	38.0	-	153
I.	500	8.82	2.7	12.0	-	247
II.	900	1.98	2.5	12.6	-	164

I., II.: Urine der jeweiligen Sammelperiode von 12 Stunden

AER: Albuminexkretionsrate

Tab. 11: Tägliche Albuminurie bei W.O. (Alter: 35 J., ♂;
Diabetesdauer: 27 J.)

Diabetesdiagnose: 27.8.7						
Urin	Harnmenge	AER		Harnzucker	Aceton	Blutzucker
	ml	µg/ml	µg/min	g/100ml	+/-	mg/100ml
konventionelle Therapie:						
I.	600(6h)	254	423	15.0	-	207
II.	1100	123	188	33.9	(+)	131
I.	500(6h)	120	167	0.5	-	190
II.	2300	40	128	100.0	(+)	270
I.	1100	126	193	8.0	-	205
II.	2600	53	191	94.0	(+)	150
Kontinuierliche Insulininfusion:						
I.	300(6h)	79	66	13.8	-	130
II.	900	69	86	9.0	(+)	133
I.	500(6h)	84	117	4.0	-	132
II.	1300	57	103	15.9	-	174
I.	1650	62	142	19.8	(+)	208
II.	400(6h)	65	72	1.2	-	112
I.	1000	49	68	22.4	-	179
II.	300(6h)	81	68	-	-	90
I.	1200	68	113	5.0	-	141
II.	1150	69	110	16.0	-	183
I.	700(6h)	44	86	-	-	88
II.	900	58	73	4.0	(+)	74
I.	1500	53	110	15.6	(+)	170
II.	1100	31	47	0.5	-	146
I.	600(6h)	43	72	-	-	118
II.	700(6h)	31	60	-	(+)	91
I.	1300	49	88	3.2	(+)	119
II.	500(6h)	48	67	-	(+)	87
I.	1000(6h)	34	94	8.0	(+)	154
II.	600(6h)	38	63	0.6	(+)	96

I., II.: Urine der jeweiligen Sammelperiode von 12 Stunden; kürzere Sammelperioden sind jeweils nach der Harnmengenangabe extra angeführt

3.2.3.2.2. Bestimmung der Albuminurie in einem längeren Zeitintervall

Nachdem, wie gerade ausgeführt, die täglichen Messungen der Albuminurie für den Kliniker kaum relevante Informationen über die Abhängigkeit der Albuminurie von akuten Stoffwechselveränderungen und deren Folgen ergeben, sollte nun die Reproduzierbarkeit von Einzeldaten, die in einem längeren Zeitintervall bestimmt wurden, überprüft werden.

Zu diesem Zweck wurden jeweils 2 Urinproben von 8 ambulanten Patienten, die regelmäßig die Diabetessprechstunde im Schwabinger Krankenhaus aufsuchten, im Abstand von ungefähr 4 Wochen untersucht.

Die Patienten kamen in nüchternem Zustand in die Klinik. Es war ihnen freigestellt, beliebig viel Flüssigkeit zu sich zu nehmen. Die Proben wurden im Durchschnitt 2-3 Stunden nach der ersten Blasenentleerung zu Hause gewonnen, und zwar, sobald die Ambulanzsprechstunde und eine Blutabnahme für die Patienten abgeschlossen waren.

Da auch unter diesen Bedingungen die individuellen Werte gut miteinander übereinstimmten, wurde das Vorgehen zur Probengewinnung als durchaus zweckmäßig befunden, um repräsentative Daten für Screeninguntersuchungen zu erhalten. Eine stärkere Standardisierung der Probengewinnung, wie beispielsweise eine exakt bemessene Flüssigkeitszufuhr oder Ruhezeiten vor der Sammelperiode (vgl. 92), komplizieren das Prozedere bei der Gewinnung von Daten, ohne daß hierbei vermutlich exaktere Ergebnisse einen solchen Aufwand bei der Bestimmung der basalen Albuminurie rechtfertigen.

Auch in dieser Gruppe ambulanter Patienten wies die Mehrzahl von ihnen eine normale Albuminurie auf (Tab. 12). Nach Mogensen (92) wäre allerdings in den beiden Fällen R.B. und S.B. bereits eine leicht erhöhte Mikroalbuminurie zu diskutieren. Der Befund einer deutlich erhöhten Mikroalbuminurie läßt sich jedoch erst bei dem Patienten S.E. konstatieren. In diesem Fall hatten herkömmliche Untersuchungen des Urins noch keine vermehrte Pro-

teinurie angezeigt. In größeren Studien mit weiteren Daten wird sich zeigen müssen, inwieweit sich gerade im Fall von S.E. an den auffälligen Befund prognostische Aussagen knüpfen lassen; denn hier handelt es sich ja um ein Ergebnis, das die Brauchbarkeit gerade dieser empfindlichen Methode des Albuminnachweises unterstreichen könnte.

Bei dem Patienten M.H. dagegen diene die Durchführung der radioimmunologischen Albuminbestimmung lediglich der Quantifizierung der schon mit Teststreifen nachgewiesenen erhöhten Albuminurie. Sowohl bei dem Patienten S.E. als auch bei M.H. waren grenzwertig erhöhte Kreatininkonzentrationen auffällig. Dies könnte in einem gewissen Zusammenhang mit der Albuminurie stehen. Der Blutdruck, der bei der diabetischen Nephropathie meistens erhöht ist, war in allen hier dargestellten Fällen normal.

Gesicherte Aussagen über das Risiko eine Nephropathie zu entwickeln, oder die frühe Aufdeckung einer beginnenden Nephropathie scheinen derzeit nur bei langfristiger Beobachtung der Patienten möglich zu sein. Um in einem kürzeren Zeitraum schon zu einer solchen Beurteilung zu kommen, ist die Entwicklung geeigneter Albuminurie-Provokationstests zu prüfen.

Tab. 12: Die basale Albuminurie bei 8 Typ-I Diabetikern

Patient	AER µg/min	BZ mg%	Kreatinin mg/100ml	Harnstoff mg/100ml	RR mm Hg
R.B. I.	3.51	145	0.8	21	115/80
II.	21.15	165	0.9	30	120/75
H.P. I.	10.09	165	0.7	29	130/80
II.	12.72	118	0.6	25	135/80
M.H. I.	222.9	311	1.1	36	140/80
II.	277.68	106	0.9	25	140/90
S.B. I.	8.81	210	0.8	33	130/75
II.	7.62	175	0.6	27	125/80
S.E. I.	42.62	311	1.1	34	125/75
II.	60.15	200	1.0	34	135/85
S.I. I.	1.77	140	0.6	23	105/75
II.	5.92	201	0.7	23	110/80
S.R. I.	15.4	184	0.7	33	100/70
II.	7.76	153	0.7	41	105/80
Z.K. I.	6.9	121	0.7	27	95/75
II.	3.5	270	0.7	34	95/75

BZ Blutzucker

RR Blutdruck

I., II.: erste bzw. zweite Messung im Abstand von ca. vier Wochen

3.2.3.2.3. Der Belastungstest zur Provokation einer gesteigerten Albuminurie

Drei der Patienten nahmen an Versuchen auf dem Fahrrad-Ergometer teil. Diese Untersuchung könnte sich vor allem als sinnvolle Ergänzung zur Bestimmung der basalen Mikroalbuminurie erweisen, wenn die basale Exkretionsrate in den fraglich erhöhten Bereich ab $15 \mu\text{g}/\text{min}$ fällt.

Die Versuche fanden jeweils nachmittags statt, und es wurden im Vergleich zu den Messungen der basalen Albuminurie erstmals strengere Rahmenbedingungen für die Durchführung gewählt: Alle Probanden mußten vor dem Versuch ihre Blase frisch entleert haben. Der Ablauf des Tests gliederte sich in drei Abschnitte: Zwischen jeweils zwei einstündigen Ruheperioden vor und nach der Belastung dauerte die körperliche Aktivität auf dem Fahrrad-ergometer zwanzig Minuten lang. Das Ausmaß der Belastung betrug $600 \text{ kpm}/\text{min}$, denn nach Mogensen sollte eine solche ausreichen, um bei Diabetikern bereits eine Steigerung der Albuminurie herbeizuführen, wogegen Gesunde unter dieser Belastung noch keine Veränderung der Nierendurchlässigkeit für Proteine zeigen würden (92).

Vor jeder dieser drei Sammelperioden erhielten die Patienten jeweils 250 ml Mineralwasser. Der Urin wurde nach jedem Abschnitt gesammelt.

Die basale Albuminurie der beiden Patientinnen R.B. und S.R. bewegte sich vollkommen im Normbereich, während sich für den Patienten S.E. der Befund einer erhöhten Mikroalbuminurie bestätigte. Der nun gefundene Wert lag sogar mehr als doppelt so hoch wie bei den vorangegangenen Messungen. Alle drei Patienten zeigten unter der Belastung eine erhöhte Albuminurie (Tab.13). Während bei R.B. und S.E. jedoch in der Ruhephase nach dem Versuch die basale Albuminurie in etwa wieder dasselbe Ausgangsniveau erreichte, wurde bei S.R. in diesem Abschnitt der höchste Wert gemessen. Auch war das Ausmaß der gesteigerten Albumindurchlässigkeit der Niere jeweils unterschiedlich: R.B. zeigte eine cirka zehnfache Steigerung, S.E. eine vierfache Steigerung und S.R. in der drit-

ten Phase ebenfalls eine vierfache Steigerung der Albuminurie. Absolut gesehen fiel jedoch die Steigerung bei S.R. am geringsten aus, und R.B. erreichte insgesamt nicht den gleichen Stand der Proteinurie wie S.E. Die Ergebnisse bei R.B. und S.E. sind, bei gleicher Diabetesdauer, vielleicht der Ausdruck einer etwas unterschiedlichen Schädigung der Nierenkapillaren. Ein Indiz dafür wäre die deutlich höhere basale Albuminurie von S.E. Was hingegen die akute Stoffwechseleinstellung betrifft, so lagen bei S.E. während der Belastung bessere Blutzucker-Werte vor als bei R.B.. Bei S.E. könnte zudem auch der im Vergleich mit R.B. höhere systemische Blutdruck Auswirkungen auf die Proteindurchlässigkeit gehabt haben. Die insgesamt geringste Steigerung der Albuminurie bei S.R. wäre wohl am ehesten mit der erst relativ kurzen Krankheitsdauer von 2 Jahren zu erklären. Immerhin ließ sich aber bereits auch hier, schon nach so relativ kurzer Zeit der Erkrankung, eine funktionelle Störung der Niere nachweisen.

Weitergehende Interpretationen der gewonnenen exemplarischen Einzeldaten sind kaum möglich. Das Nephropathie-Risiko für die hier untersuchten Patienten muß aufgrund der geringen Anzahl von Versuchspersonen ebenso wie des nur relativ kurzen Beobachtungszeitraumes wegen offen bleiben. Von der weiteren klinischen Anwendung der radioimmunologischen Bestimmung der Mikroalbuminurie in größeren Studien wurde, wie eingangs dieses Abschnittes bereits erwähnt, zugunsten der nephelometrischen Bestimmung der Albuminkonzentration im Urin verzichtet. Die Vorteile dieser Methode sind, bei vergleichbarer Empfindlichkeit des Meßbereichs, neben der Entbehrlichkeit radioaktiver Substanzen, die schnellere und damit viel weniger aufwendige Durchführbarkeit der Bestimmungen.

Es bleibt zu hoffen, daß sich in den neuen Studien die Bestimmung der Mikroalbuminurie tatsächlich als zuverlässige, nicht invasive Methode zur Früherkennung der diabetischen Nephropathie bewähren wird.

Tab. 13: Die Albuminurie in Abhängigkeit von der körperlichen Belastung auf dem Fahrradergometer

Patient	BZ mg%	Puls	RR mm Hg	AER µg/min
R.B. I.	167	68	115/75	9.71
II.	108	150	180/60	135.50
III.	45	92	140/80	17.1
S.E. I.	113	96	145/85	131.31
II.	127	165	205/75	406.23
III.	117	99	130/75	117.4
S.R. I.	259	68	115/65	8.72
II.	241	143	140/80	23.09
III.	232	76	105/70	36.66

I., II., III.: Phasen vor, während und nach der Belastung

Zusammenfassung

Das Ziel vorliegender Arbeit war es, einen Radioimmunoassay für Albumin zur Früherfassung der diabetischen Nephropathie im Labor einzuführen und seine Anwendbarkeit zu prüfen. Mit Hilfe dieser Untersuchungsmethode sollten, als Teil einer prospektiven Langzeitstudie, Erfahrungen über die Auswirkungen der optimalen Stoffwechseleinstellung unter Anwendung von Insulin-Dosiergeräten auf die Entwicklung renaler diabetischer Spätkomplikationen gewonnen werden.

Nach anfänglichen Schwierigkeiten bei der Isolierung der Albumin-Albuminantikörper-Komplexe, (wobei eine Beeinträchtigung der Bindungskinetik wahrscheinlich vor allem auf eine Radiolyse des markierten Albumins zurückzuführen war), gelang es schließlich, reproduzierbare Standardkurven zu erstellen. Die Empfindlichkeit der Eichkurve ($B/B_0 = 80\%$) lag bei 5 ± 3 ng/100 μ l, der Bereich der größten Präzision ($B/B_0 = 50\%$) bei 24 ± 4 ng Albumin/100 μ l. Die Präzisionskontrolle von Tag zu Tag ergab für zwei unterschiedliche Proben in je 12 Messungen einen Mittelwert von 17.6 ± 0.8 ng/100 μ l, bzw. 30.4 ± 1.8 ng/100 μ l. Die Präzision in der Serie, die anhand von drei Proben je 6fach bestimmt wurde, betrug im Durchschnitt 6.6 ± 0.5 ng/100 μ l, 22.95 ± 1.2 ng/100 μ l und 15.0 ± 0.8 ng/100 μ l. Nach Zugabe bekannter Albuminmengen zu Urinproben mit bekannter Albuminkonzentration lag die durchschnittliche Abweichung vom erwarteten Wiederfindungswert bei 5.1%. Die Ergebnisse der Bestimmung der Mikroalbuminurie bei 8 gesunden Probanden mit Exkretionswerten zwischen 3.5 - 8.5 mg/24 h stimmten mit den Angaben in der Literatur (normale Albuminurie 2.2 - 12.6 mg/24 h) überein.

Nach ersten klinischen Untersuchungen an 14 Patienten ist festzuhalten, daß tägliche Messungen der Albuminurie keine direkte Korrelation zu Schwankungen der aktuellen Stoffwechseleinstellung erkennen ließen. Individuelle Werte bei den hier untersuchten Patienten waren, auch in einem größeren Zeitinter-

vall von etwa einem Monat, gut reproduzierbar. Bei einem Patienten, der mit Hilfe eines Insulin-Dosiergerätes neu eingestellt wurde, zeigte sich während dieser Zeit insgesamt gesehen sogar ein deutlicher Rückgang der erhöhten Albuminausscheidung. Drei weitere Patienten nahmen an einem Belastungstest auf dem Fahrradergometer teil. Bei ihnen war eine Erhöhung der basalen Albuminurie zu beobachten, davon bei einem Patienten schon nach einer Diabetesdauer von nur zwei Jahren.

Eine ausgedehntere Serie von Messungen wurde im Rahmen der oben angeführten Langzeitstudie nicht mehr durchgeführt, da während der Erstellung der Arbeit die labortechnische Entwicklung einen einfacheren, schnelleren nephelometrischen Test erbrachte, dessen großer Vorzug zudem darin liegt, ohne Radioaktivität auszukommen.

Um zu zeigen, welchen Stellenwert und welche Erkenntnismöglichkeit die Bestimmung der Mikroalbuminurie bietet, war eine weitere Aufgabe der Arbeit den derzeitigen Stand des Wissens zur Pathogenese und Klinik der diabetischen Nephropathie darzustellen.

Trotz intensiver Forschung sind Ursache und Pathogenese der diabetischen Nephropathie bis heute nicht geklärt. Inzwischen ist zwar unbestritten, daß die Krankheitsentwicklung erst als Folge eines hyperglykämischen Stoffwechsellmilieus möglich ist, jedoch bleibt nach wie vor unbekannt, warum diese diabetische Spätkomplikation immer nur einen Teil aller Patienten betrifft. Bislang erscheint es fast unmöglich, aus dem komplexen Geschehen eine Abgrenzung von Einzeleffekten zu treffen, um ihren Stellenwert als mögliche kausale pathogenetische Faktoren zu bestimmen.

In groben Zügen könnte man die Entwicklung funktioneller Veränderungen, die zur Steigerung der Glomerulären Filtrationsrate am Anfang des Krankheitsprozesses führt, als Kompensationsmechanismus zur Wiederherstellung eines durch die hyperglykämische Stoffwechsellaage aus dem Gleichgewicht gebrachten "Inneren Milieus" verstehen. Dadurch kommt es möglicherweise zu reaktiven

Umbauvorgängen, sowie zusätzlich zu langfristigen, durch die unzureichende Stoffwechselführung induzierten, strukturellen Veränderungen in der Basalmembran und im Mesangium. Neuere Befunde deuten eine unterschiedliche Entwicklung morphologischer Veränderungen der Basalmembran und des Mesangiums an. Hieraus ließe sich eine unterschiedliche Wertigkeit beider Strukturen für den Krankheitsprozeß ableiten.

Ein bisher ungelöstes und wesentliches Problem bei der Entstehung der Glomerulosklerose ist die Frage, wie sich funktionelle und strukturelle Veränderungen, die im Einzelnen sehr gut beschrieben sind, gegenseitig beeinflussen beziehungsweise verursachen. Als Beispiel sei erwähnt, daß die Erfolge einer konsequenten Behandlung der Hypertonie im Spätstadium der Nephropathie zumindest eine starke Interdependenz struktureller und funktioneller Veränderungen auch noch im Spätstadium der Erkrankung zeigen. Mehrere Arbeitsgruppen berichten in jüngster Zeit über eine Verlangsamung des renalen Zerstörungsprozesses durch die Behandlung des erhöhten Blutdrucks.

Obgleich die ursächlichen Zusammenhänge noch keineswegs geklärt sind, gibt es genügend Hinweise dafür, daß die Entstehung von Spätschäden an der Niere durch eine gute Stoffwechseleinstellung verhindert oder zumindest verlangsamt werden können. Daher ist die optimale Überwachung des Stoffwechsels bislang das vordringlichste Ziel zur Vorbeugung dieser Spätkomplikation.

Ein sehr empfindlicher, wenn auch nicht diabetes-spezifischer Parameter einer sich anbahnenden Funktionseinschränkung der Niere ist die vermehrte Mikroalbuminurie. Zur einfachen routinemäßigen Überwachung der Nierenfunktion aller Diabetiker bietet sich diese Bestimmung an, um die Gruppe derjenigen Patienten zu erkennen, deren Risiko, eine klinische Nephropathie zu entwickeln, besonders hoch ist. Die diagnostische und prognostische Bedeutung dieser Methode muß sich in der weiteren klinischen Anwendung erweisen.

Literatur

1. Barbosa, J.: Is diabetic microangiopathy genetically heterogeneous? HLA and diabetic nephropathy in: Standl, E., Mehnert, H. (Hrsg.): Pathogenetic concepts of diabetic microangiopathy
Thieme, Stuttgart, New York 1981
- 1a. Barnett, A.H., Spiliopoulos, A.J., Pyke, D.A., Stubbs, W.A., Burrin, J., Alberti, K.G.M.M.: Metabolic studies in Chlorpropamide-alcohol flush positive and negative Type 2 (non-insulin dependent) diabetic patients with and without retinopathy
Diabetologia 24: 213 - 215, 1983
2. Baylis, C., Ichikawa, J., Willis, W.T., Wilson, C.B., Brenner, B.M.: Dynamics of glomerular ultrafiltration. IX. Effects of plasma protein concentration
Am. J. Physiol. 232(1): F58-F71, 1977
3. Beisswenger, P.J., Spiro, R.G.: Studies on the human glomerular basement membrane: Composition, nature of the carbohydrate units and chemical changes in diabetes mellitus.
Diabetes 22: 180-193, 1973
4. Brenner, B.M., Hostetter, T.H., Olson, J.L., Rennke, H.G., Venkatachalam M.A.: The role of glomerular hyperfiltration in the initiation and progression of diabetic nephropathy
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 7-10, 1981
5. Brenner, B.M., Humes, H.D.: Mechanisms of glomerular ultrafiltration
N. Engl. J. Med. 297: 148-154, 1977

6. Brøchner-Mortensen, J., Ditzel, J.: Glomerular filtration rate and extracellular fluid volume in insulin-dependent patients with diabetes mellitus
Kidney Int. 21: 696-698, 1982
7. Brownlee, M., Vlassara, H., Cerami, A.: Nonenzymatic glycosylation reduces the susceptibility of fibrin to degradation by plasmin
Diabetes 32: 680-684, 1983
8. Cameron, J.S., Ireland J.T., Watkins, P.J.:
The kidney and renal tract
in: Keen, H., Jarrett, J. (Hrsg.): Complications of diabetes
Arnold, London, 1975¹
9. Canivet, J., Cruz, A., Moreau-Lalande H.: Biochemical abnormalities of the human diabetic glomerular basement membrane
Metabolism 28: 1206-1209, 1979
10. Carrie, B.J., Myers, B.D.: Proteinuria and functional characteristics of the glomerular barrier in diabetic nephropathy
Kidney Int. 17: 669-676, 1980
11. Chavers, B., Etzwiler, D., Michael, A.F.: Albumin deposition in dermal capillary basement membrane in insulin-dependent diabetes mellitus. A preliminary report
Diabetes 30: 275-278, 1981
12. Christensen, N.J., Gundersen, H.J.G., Mogensen C.E., Vittinghus, E.: Intravenous insulin decreases urinary albumin excretion in long-term diabetics with nephropathy
Diabetologia 18: 285-288, 1980

13. Christiansen, J.S., Frandsen, M., Parving, H.-H.: The effect of intravenous insulin infusion on kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus
Diabetologia 20: 199-204, 1981
14. Christiansen, J.S., Frandsen, M., Svendsen, P.A., Gammelgaard, J., Parving, H.-H.: Rapid changes in kidney function: factors influencing kidney function in diabetics and normal man
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 11-13, 1981
15. Christiansen, J.S., Frandsen, M., Parving H.-H.: Effect of intravenous glucose infusion on renal function in normal man and in insulin-dependent diabetics
Diabetologia 20: 368-373, 1981
16. Christiansen, J.S., Gammelgaard, J., Frandsen, M., Parving, H.-H.: Increased kidney size, glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetics
Diabetologia 20: 451-456, 1981
17. Cohen, A.H., Mompaso, F., Zamboni, L.: Glomerular podocyte degeneration in human renal disease. An ultrastructural study
Lab. Invest. 37: 30-42, 1977
18. Cohen, M.P., Urdanivia, E., Surma, M., Ciborowski, C.J.: Nonenzymatic glycosylation of basement membranes. In vitro studies
Diabetes 30: 367-371, 1981

- 18a. Conen, M.P., Wu, V.Y.: Identification of specific amino acids in diabetic glomerular basement membrane collagen subject to nonenzymatic glucosylation in vivo
Biochem. Biophys. Res. Commun. 100: 1549-1554, 1981
19. Colwell, J.A., Winocour, P.D., Halushka, P.V.: Do platelets have anything to do with diabetic microvascular disease ?
Diabetes 32 (Suppl.2): 14-19, 1983
20. Courtoy, P.J., Kanwar, Y.S., Hynes, R.O., Farquhar, M.G.: Fibronectin localization in the rat glomerulus
J. Cell Biol. 87: 691-696, 1980
21. Courtoy, P.J., Kanwar, Y.S., Timpl, R., Hynes, R.O., Farquhar, M., G.: Comparative distribution of fibronectin, Type IV collagen and laminin in the rat glomerulus
J. Cell Biol. 87 (Suppl.2) 124A, 1980
22. Deckert, T., Poulsen, J.E., Larsen, M.: Prognosis of diabetics with diabetes onset before the age of thirtyone. I. Survival, causes of death and complications
Diabetologia 14, 363-370, 1978
23. Deckert, T., Poulsen, J.E.: Diabetic nephropathy: Fault or destiny?
Diabetologia 21: 178-183, 1981
24. Deckert, T., Andersen, A.R., Christiansen, J.S., Andersen, J.K.: Course of diabetic nephropathy. Factors related to development
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 14-15, 1981

25. Ditzel, J., Standl, E.: The problem of tissue oxygenation in diabetes mellitus. I. Its relation to the early functional changes in the microvasculature of diabetic subjects
Acta Med. Scand. 578 (Suppl.1): 49-58, 1975
26. Ditzel, J., Brøchner-Mortensen, J., Rodbrø, P.: A combined disturbance in renal tubular handling of glucose and phosphate leads to increased glomerular filtration rate in diabetes mellitus. A new hypothesis
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 16-18, 1981
27. Ditzel, J., Brøchner-Mortensen, J.: Tubular reabsorption rates as related to elevated glomerular filtration in diabetic children
Diabetes 32 (Suppl.2): 28-33, 1983
28. Dolhofer, R., Wieland, O.H.: Increased glycosylation of serum albumin in diabetes mellitus
Diabetes 29: 417-422, 1980
29. Drury, P.L.: Diabetes and arterial hypertension
Diabetologia 24: 1-9, 1983
30. Engerman, R., Bloodworth, J.M.B., Nelson, S.: Relationship of microvascular disease in diabetes to metabolic control
Diabetes 26: 760-769, 1977
31. Fabre, J., Balant, L.P., Dayer, P.G., Fox, H.M., Vernet, A.T.: The kidney in maturity onset diabetes mellitus: A clinical study of 510 patients
Kidney Int. 21: 730-738, 1982

32. Falk, R.J., Scheinmann, J.I., Mauer, S.M., Michael, A.F.:
Polyantigenic expansion of basement membrane
constituents in diabetic nephropathy
Diabetes 32 (Suppl.2): 34-39, 1983
- 32a. Fateh-Moghadam, A., Franzek, E., v. Stetten, K.,
Neumeier, D.: β_2 -Mikroglobulin: Erfahrungen mit
einer enzymimmunologischen Methode
zitiert nach Arbeitspapier: Kongress für
Laboratoriumsmedizin, Wien, April 1983
(Fotokopie)
33. Fox, M., Thier, S., Rosenberg, L., Segal, S.: Impaired renal
tubular function induced by sugar infusion in man
J. Clin. Endocr. 24: 1318-1327, 1964
34. Friedman, E.A.: Diabetic nephropathy: Strategies in
prevention and management
Kidney Int. 21: 780-791, 1982
35. Friedman, E.A.: Diabetic nephropathy is a hyper-
glycemic glomerulopathy
Arch. Intern. Med. 142: 1269-1270, 1982
36. Friedman, S., Jones, H.W., Golbetz, H.V., Lee, J.A.,
Little, H.L., Myers, B.D.: Mechanisms of proteinuria in
diabetic nephropathy II. A study of the size-
selective glomerular filtration barrier
Diabetes 32 (Suppl.2): 40-46, 1983
37. Göttsche, O., Gundersen, H.J.G., Østerby, R.:
Irreversibility of glomerular basement membrane
accumulation despite reversibility of renal hyper-
trophy with islet transplantation in early
experimental diabetes
Diabetes 30: 481-485, 1981

38. Gundersen, H.J.G., Christensen, N.J.: Intravenous insulin causing loss of intravascular water and albumin and increased adrenergic nervous activity in diabetes
Diabetes 26: 551-557, 1977
39. Gundersen, H.J.G., Østerby, R.: Glomerular size and structure in diabetes mellitus. II Late abnormalities
Diabetologia 13, 43-48, 1977
40. Gundersen, H.J.G., Gøtzsche, O., Hirose, K., Kroustrup, J.P., Mogensen, C.E., Seyer-Hansen, K., Østerby, R.: Early structural changes in glomerular capillaries and their relationship to long-term diabetic nephropathy
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 19-21, 1981
41. Harper, H.A., Löffler, G., Petrides, P.E., Weiss, L.: Physiologische Chemie. Eine Einführung in die medizinische Biochemie für Studierende der Medizin und Ärzte
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1975¹
42. Hegedüs, L., Christensen, N.J., Mogensen, C.E., Gundersen, H.J.G.: Oral glucose increases urinary albumin excretion in normal subjects but not in insulin-dependent diabetics
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 40: 497-482, 1980
43. Hirose, K., Østerby, R., Nozawa, M., Gundersen, H.J.G.: Development of glomerular lesions in experimental long-term diabetes in the rat
Kidney Int. 21: 689-695, 1982
44. Hostetter, T.H.: Renal microcirculation in diabetes mellitus
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 22-24, 1981

45. Hostetter, T.H., Troy, J.L., Brenner, B.M.: Glomerular haemodynamics in experimental diabetes mellitus
Kidney Int. 19: 410-415, 1981
46. Iavicoli, M., Di Mario, U., Pozzilli, P., Canalese, J., Ventriglia, L., Galfo, C., Andreani, D.: Impaired phagocytic function and increased immune complexes in diabetics with severe microangiopathy
Diabetes 31: 7-11, 1982
47. Janka, H.U., Haupt, E., Standl, E.: Gefäßkrankheiten bei Diabetes mellitus
in: Mehnert, H., Schöffling, K. (Hrsg.): Diabetologie in Klinik und Praxis
Thieme, Stuttgart, 1984²(im Druck)
48. Jensen, P.K., Christiansen, J.S., Steven, K., Parving, H.-H.: Renal function in diabetic rats
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 25, 1981
49. Jerai, K.P., Michael, A.F., Mauer, M.S., Brown, D.M.: Glucosylated and normal human or rat albumin do not bind to renal basement membranes of diabetic and control rats
Diabetes 32: 380-382, 1983
50. Jones, R.H., Mackay, J.D., Hayakawa, H., Parsons, V., Watkins, P.J.: Progression of diabetic nephropathy
The Lancet I: 1105-1106, 1979
51. Kamenetzky, S.A., Bennett, P.H., Dippe, S.E., Miller, M., LeCompte, P.M.: A clinical and histologic study of diabetic nephropathy in the Pima Indians
Diabetes 23: 61-68, 1974

52. Kanwar, Y.S., Farquhar, M.G.: Presence of heparan sulfate in the glomerular basement membrane
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 1303-1307, 1979
53. Kanwar, Y.S., Hascall, V.C., Farquhar, M.G.: Partial characterization of newly synthesized proteoglycans isolated from the glomerular basement membrane
J. Cell. Biol. 90: 527-532, 1981
54. Keen, H., Chlouverakis, C.: An immunoassay method for urinary albumin at low concentrations
The Lancet II: 913-914, 1963
55. Kilo, C., Vogler, N., Williamson, J.R.: Muscle capillary basement membrane changes related to aging and to diabetes mellitus
Diabetes 21: 881-905, 1972
56. Kimmelstiel, P., Wilson, C.: Intercapillary lesions in the glomeruli of the kidney
Am. J. Pathol. 12: 83-97, 1936
57. Koivisto, V.A., Huttunen, N.-P., Nikkilä, E.A.: Continuous subcutaneous insulin infusion (CSI) reduces the exercise-induced hypoglycemia and albuminuria in juvenile onset diabetics (JOD)
Diabetes 29 (Suppl.2): 66a, 1980
58. Kraus, H.M.I.: Insulin, glucagon and oral hypoglycemic drugs, in: Dukes, M.N.G. (Hrsg.): Side effects of drugs (Annual 7)
Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford, Princeton, 1983

59. Kroustrup, J.P., Gundersen, H.J.G., Østerby, R.: Glomerular size and structure in diabetes mellitus. III. Early enlargement of the capillary surface
Diabetologia 13: 207-210, 1977
60. Kuhlmann, H.: Nierenkrankheiten bei Diabetes mellitus
in: Mennert, H., Schöffling, K. (Hrsg.): Diabetologie in Klinik und Praxis
Thieme, Stuttgart, 1974
61. Lopes-Virella, M.F., Virella, G., Rosebrock, G., Sagel, J., Gonzalez, J., Colwell, J.: Early diagnosis of renal malfunction in diabetics
Diabetologia 16: 165-171, 1979
62. Lundbaek, K.: Growth hormone's role in diabetic microangiopathy
Diabetes 25 (Suppl.2): 845-849, 1976
63. Mauer, S.M., Sutherland, D.E.R., Steffes, M.W., Leonard, J.S., Najarian, A.F., Michael, A.F., Brown, D.M.: Pancreatic islet transplantation. Effects on the glomerular lesions of experimental diabetes in the rat
Diabetes 23: 748-753, 1974
64. Mauer, S.M., Barbosa, J., Vernier, R.L., Kjellstrand, C.M., Buselmeier, T.J., Simmons, R.L., Najarian, J.S., Goetz, F.C.: Development of diabetic vascular lesions in normal kidneys transplanted into patients with diabetes mellitus
N. Engl. J. Med. 295: 916-920, 1976
65. Mauer, S.M., Steffes, M.W., Azar, S., Sandberg, S.K., Brown, D.M.: The effects of Goldblatt hypertension on development of glomerular lesions of diabetes mellitus in the rat
Diabetes 27: 738-744, 1978

66. Mauer, S.M., Steffes, M.W., Brown, D.M.:
The kidney in diabetes
Am. J. Med. 70:603-612, 1981
67. Mauer, S.M., Brown, D.M., Steffes, M.W.: Studies on the
reversibility of kidney changes in experimental
diabetes in the rat
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 29-30, 1981
68. Mauer, S.M., Steffes, M.W., Goetz, F.C., Sutherland, D.E.,
Brown, D.M.: Diabetic nephropathy. A perspective
Diabetes 32 (Suppl.2): 52-55, 1983
69. Mauer, S.M., Steffes, M.W., Connett, J., Najarian, J.S.,
Sutherland, D.E.R., Barbosa, J.: The development of
lesions in the glomerular basement membrane and
mesangium after transplantation of normal kidneys
to diabetic patients
Diabetes 32: 948- 952, 1983
70. McMillan, D.E.: Deterioration of the microcirculation
in Diabetes
Diabetes 24: 944-957, 1975
71. McMillan, D.E.: Renal vascular changes in diabetes and
their predicted effects
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 26-28, 1981
72. McMillan, D.E.: The effect of diabetes on blood flow
properties
Diabetes 32 (Suppl.2): 56-63, 1983

73. Mc Verry, B.A., Fisher, C., Hopp, A., Huehns, E.R.: Production of pseudodiabetic renal glomerular changes in mice after repeated injections of glycosylated proteins
The Lancet I: 738-740, 1980
74. Mehnert, H., Förster, H.: Stoffwechselkrankheiten, Biochemie und Klinik
Thieme, Stuttgart, 1975
75. Mehnert, H., Schöffling, K. (Hrsg.): Diabetologie in Klinik und Praxis
Thieme, Stuttgart, 1974¹
76. Mehnert, H.: Diabetische Mikroangiopathie und Stoffwechselkontrolle
Dtsch. med. Wschr. 94: 42-45, 1969
77. Mehnert, H.: Zur Pathogenese und Prophylaxe der diabetischen Mikroangiopathie
Dtsch. med. Wschr. 99: 2418-2421, 1974
78. Michael, A.F., Brown, D.M.: Increased concentration of albumin in kidney basement membranes in diabetes mellitus
Diabetes 30: 843-846, 1981
79. Miles, D.W., Mogensen, C.E., Gundersen, H.J.G.: Radioimmunoassay for urinary albumin using a single antibody
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 26: 5-11, 1970
80. Mogensen, C.E.: Urinary albumin excretion in early and long-term juvenile Diabetes
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 28: 183-193, 1971

81. Mogensen, C.E., Andersen, M.J.F.: Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes
Diabetes 22: 706-712, 1973
82. Mogensen, C.E., Andersen, M.J.F.: Increased kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes: Normalization by insulin-treatment
Diabetologia 11: 221-224, 1975
83. Mogensen, C.E.: Renal function changes in diabetes
Diabetes 25: 872-879, 1976
84. Mogensen, C.E., Christensen, N.J., Gundersen, H.J.G.: The acute effect of insulin on renal hemodynamics and protein excretion in diabetics
Diabetologia 15: 153-157, 1978
85. Mogensen, C.E., Østerby, R., Gundersen, H.J.G.: Early functional and morphologic vascular renal consequences of the diabetic state
Diabetologia 17: 71-76, 1979
86. Mogensen, C.E., Østerby, R., Gundersen, H.J.G.: Early functional and morphologic vascular renal consequences of the diabetic state
Diabetologia 18: 176-177, 1980
87. Mogensen, C.E., Christensen, N.J., Gundersen, H.J.G.:
The acute effect of insulin on heart rate, blood pressure, plasma noradrenaline and urinary albumin excretion
Diabetologia 18: 453-457, 1980

88. Mogensen, C.E.: Long-term antihypertensive treatment
(over six years) inhibiting the progression of dia-
betic nephropathy
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 31-32, 1981
89. Mogensen, C.E.: Renal plasma flow in juvenile diabetes
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 33-35, 1981
90. Mogensen, C.E., Steffes, M.W., Deckert, T.,
Christiansen, J.S.: Functional and morphological
renal manifestations in diabetes mellitus
Diabetologia 21: 89-93, 1981
91. Mogensen, C.E.: Diabetes mellitus and the kidney
Kidney Int. 21: 673-675, 1982
92. Mogensen, C.E., Christensen, C.K., Vittinghus, E.: The
stages in diabetic renal disease with emphasis
on the stage of incipient diabetic nephropathy
Diabetes 32 (Suppl.2): 64-78, 1983
93. Moloney, A., Tunbridge, W.M.G., Ireland, J.T., Watkins, P.J.
Mortality from diabetic nephropathy in the United
Kingdom
Diabetologia 25: 26-30, 1983
94. Myers, B.D.: Glomerular barrier function in advanced
diabetic nephropathy
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 36-38, 1981
95. Østerby, R., Gundersen, H.J.G.: Glomerular size and
structure in diabetes mellitus. I. Early
abnormalities
Diabetologia 11: 225-229, 1975

96. Østerby, R.: Early phases in the development of diabetic glomerulopathy. A quantitative electron microscopic study
Acta Med. Scand. 574 (Supl.):1-82, 1975
97. Østerby, R., Gundersen, H.J.G., Christensen, N.J.: The acute effect of insulin on capillary endothelial cells
Diabetes 27: 745-749, 1978
98. Østerby, R., Gundersen, H.J.G.: Fast accumulation of basement membrane material and the rate of morphological changes in acute experimental diabetic glomerular hypertrophy
Diabetologia 18: 493-500, 1980
99. Østerby, R., Gøtzsche, O., Gundersen, H.J.G., Hirose, K., Lundbaek, K., Seyer-Hansen, K.: Progression of glomerular structural kidney alterations in diabetic rat and man
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 63-64, 1981
100. Østerby, R., Gundersen, H.J.G., Hørlück, A., Kroustrup, J.P., Nyberg, G., Westberg, G.: Diabetic Glomerulopathy. Structural characteristics of the early and advanced stages
Diabetes 32 (Suppl.2): 79-82, 1983
101. Parving, H.-H., Noer, I., Deckert, T., Evrin, P.-E., Nielsen, S.L., Lyngsøe, J., Mogensen, C.E., Rørth, M., Svendsen, P.A., Trap-Jensen, J., Lassen, N.A.: The effect of metabolic regulation on microvascular permeability to small and large molecules in short-term juvenile diabetics
Diabetologia 12, 161-166 (1976)

102. Parving, H.-H.: Increased microvascular permeability to plasma proteins in short- and long-term juvenile diabetics
Diabetes 25 (Suppl.2): 884-889, 1976
103. Parving, H.-H., Noer, I., Deckert, T., Lassen, N., A.: Intravenous insulin has no effect on transcapillary escape rate of albumin and on plasma volume in short-term juvenile diabetics
Diabetes 28: 282-286, 1979
104. Parving, H.-H., Christiansen, J.S., Noer, I., Tronier, B., Mogensen, C.E.: The effect of glucagon infusion on kidney function in short-term insulin dependent juvenile diabetics
Diabetologia 19: 350-354, 1980
105. Parving, H.-H., Andersen, A.R., Smidt, U.M., Friisberg, B., Svendsen, P.Aa.: Reduced albuminuria during early and aggressive antihypertensive treatment of insulin-dependent diabetic patients with diabetic nephropathy
Diabetes Care 4: 459-463, 1981
106. Parving, H.-H., Andersen, A.R., Smidt, U., Friisberg, B., Bonnevie-Nielsen, V., Svendsen, P.Aa.: The natural course of glomerular filtration rate and arterial blood pressure in diabetic nephropathy, and the effect of antihypertensive treatment
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 39-40, 1981
107. Parving, H.-H., Smidt, U.M., Friisberg, B., Bonnevie-Nielsen, V., Andersen, A.R.: A prospective study of glomerular filtration rate and arterial blood pressure in insulin-dependent diabetics with diabetic nephropathy
Diabetologia 20: 457-461, 1981

108. Parving, H.-H., Andersen, A.R., Smidt, U.M., Oxenbøll, B.,
Edsberg, B., Christiansen, J.S.: Diabetic nephropathy
and arterial hypertension
Diabetologia 24: 10-12, 1983

109. Parving, H.-H., Andersen, A.R., Smidt, U.M., Christiansen, J.S.,
Oxenbøll, B., Svendsen, P.Aa.: Diabetic nephropathy and
the effect of antihypertensive treatment
Diabetes 32 (Suppl.2): 83-87, 1983

110. Pennell, J.P., Meinking, T.L.: Pattern of urinary proteins in
experimental diabetes
Kidney Int. 21: 709-713, 1982

111. Pesce, A.J., First, M.R.: Proteinuria: An integrated review
Dekker, New York, Basel, 1979

112. Peterson, P.A., Ervin, P.E., Beggard, I.: Differentiation of
glomerular, tubular and normal proteinuria: Determination
of urinary excretion of β^2 - microglobulin, albumin and
total protein
J. clin. Invest. 48: 1189-1198, 1969

113. Pickup, J.C., Keen, H.: Continuous subcutaneous insulin
infusion: A developing tool in diabetes research
Diabetologia 18: 1-4, 1980

114. Pickup, J.C., Keen, H., Viberti, G.C., White, M.C., Kohner, E.M.,
Parsons, J.A., Alberti, K.G.M.M.: Continuous subcutaneous
insulin infusion in the treatment of diabetes mellitus
Diabetes Care 3: 290-300, 1980

115. Pirart, J.: Diabète et complications dégénératives.
Presentation d'une étude prospective portant sur 4 4000 cas
observés entre 1947 et 1973 (en trois parties)
Diabète et Métabolisme 3: 97-107, 173-182, 245-256, 1977

116. Pitkanen, E., Hulmi, S.: Long-term subcutaneous insulin infusion therapy and progression of nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes
Diabetologia 22: 378, 1982

117. Puig, J. A., Antón, F. M., Grande, C., Pallardo, L. F., Arnalich, F., Gil, A., Vázquez, J. J., García, A. M.: Relation of kidney size to kidney function in early insulin-dependent diabetes
Diabetologia 21: 363-367, 1981

118. Rasch, R.: Prevention of diabetic nephropathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment.
Kidney size and glomerular volume
Diabetologia 16: 125-128, 1979

119. Rasch, R.: Prevention of diabetic nephropathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment.
Glomerular basement membrane thickness
Diabetologia 16: 319-324, 1979

120. Rasch, R.: Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment:
The mesangial region
Diabetologia 17: 243-248, 1979

121. Rasch, R.: Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment:
Albumin excretion
Diabetologia 18: 413-416, 1980

122. Rasch, R.: Urinary excretion of albumin and total protein in normal and streptozotocin diabetic rats
Acta Endocrinol. 95: 376-381, 1980

123. Rasch, R.: Studies on the prevention of glomerulopathy in diabetic rats
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 43-44, 1981
124. Reddi, A.S.: Diabetic microangiopathy: I. Current status of the chemistry and metabolism of the glomerular basement membrane
Metabolism 27: 107-124, 1978
125. Rimoin, D.L., Rotter, J.I.: Genetic heterogeneity in diabetes mellitus and diabetic microangiopathy.
in: Standl, E., Mehner, H. (Hrsg.): Pathogenetic concepts of diabetic microangiopathy
Thieme, Stuttgart, 1981
126. Rohrbach, D.H., Hassell, J.R., Kleinmann, H.K., Martin, G.R.: Alterations in the basement membrane (heparan sulfate) proteoglycan in diabetic mice
Diabetes 31: 185-188, 1982
127. Schmidt, R.F., Thews, G.: Physiologie des Menschen
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1980²⁰
128. Seyer-Hansen, K., Gundersen, H.J.G., Østerby, R.: Renal hypertrophy in diabetes and after unilateral nephrectomy: similarities and differences
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 45-46, 1981
129. Seyer-Hansen, K.: Renal hypertrophy in experimental diabetes: relation to severity of diabetes
Diabetologia 13: 141-143, 1977
130. Shea, S.M.: The relation between structure and function in the glomerular capillary bed
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 47-50, 1981

131. Siperstein, M.D., Unger, R.H., Madison, L.L.: Studies of muscle capillary basement membranes in normal subjects, diabetics, and prediabetic patients
J. clin. Invest. 47: 1973-1999, 1968
132. Silva, F.G., Weber, C.J., Pirani, C.L., Hardy, M.A., Reemtsma, K.: Blood glucose levels and proteinuria
N. Engl. J. Med. 301: 160, 1979
133. Siess, E.A., Nätke, H.E., Dexel, T., Haslbeck, M., Mehnert, H., Wieland, O.H.: Dependency of muscle capillary basement membrane thickness on the duration of diabetes
Diabetes Care 2: 472-478, 1979
134. Spiro, R.G.: Search for a biochemical basis of diabetic microangiopathy
Diabetologia 12: 1-14, 1976
135. Standl, E.: Diabetischen Mikroangiopathie: Neuere Konzepte zur Pathogenese
Dtsch. med. Wschr. 103: 841-844, 1978
136. Standl, E., Mehnert, H. (Hrsg.): Pathogenetic concepts of diabetic microangiopathy
Thieme, Stuttgart, 1981
137. Steffes, M.W., Brown, D.M., Basgen, J.M., Mauer, S.M.: Amelioration of mesangial volume and surface alterations following islet transplantation in diabetic rats
Diabetes 29: 509-515, 1980
138. Steffes, M.W., Brown, D.M., Mauer, S.M.: The development, enhancement and reversal of the secondary complications of diabetes mellitus
Human Pathol. 10: 293-299, 1979

139. Stéphan, F., Réville, P., de Laharpe, F.: Effect of hormonal and nutritional factors on kidney size and renal compensatory hypertrophy
Acta Endocrinol. 97 (Supp.242): 51-52, 1981
140. Svendsen, P.Aa., Oxenboll, B., Christiansen, J.S.: Microalbuminuria in diabetic patients - a longitudinal study
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 53-54, 1981
141. Takazakura, E., Nakamoto, Y., Hayakawa, H., Kawai, K., Murmoto, S., Yoshida, K., Shimizu, M., Shinoda, A., Takeuchi, J.: Onset and progression of diabetic glomerulosclerosis. A prospective study based on serial renal biopsies
Diabetes 24: 1-9, 1975
142. Tchobroutsky, G.: Relation of diabetic control to development of microvascular complications
Diabetologia 15: 143-152, 1978
143. Thorell, J.I., Johansson, B.G.: Enzymatic iodination of polypeptides with ^{125}I to high specific activity
Biochim. Biophys. Acta 251: 363-369, 1971
144. Viberti, G.C., Jarrett, R.J., Keen, H.: Diuresis and urinary albumin excretion: The effect of hydration. A study in insulin-dependent diabetics and normal controls
Diabetologia 13: 438, 1977
145. Viberti, G.C., Jarrett, R.J., McCartney, M., Keen, H.: Increased glomerular permeability to albumin induced by exercise in diabetic subjects
Diabetologia 14: 293-300, 1978

146. Viberti, G.C., Pickup, J.C., Jarrett, R.J., Keen, H.: Urinary albumin excretion during conventional treatment and during subcutaneous insulin infusion in diabetic subjects
Eur. J. clin. Invest. 8: 336, 1978
147. Viberti, G.C., Pickup, J.C., Jarrett, R.J., Keen, H.: Effect of control of blood glucose on urinary excretion of albumin and β_2 -microglobulin in insulin-dependent diabetes
New Engl. J. Med. 300: 638-641, 1979
148. Viberti, G.C.: Early functional and morphologic vascular renal consequences of the diabetic state
Diabetologia 18: 173-175, 1980
149. Viberti, G.C., Keen, H., Pickup, J.C., Bilous, R.W.: Proteinuria and diabetic control in insulin-dependent diabetes mellitus
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 59-60, 1981
150. Viberti, G.C., Pickup, J.C., Bilous, R.W., Keen, H., Mackintosh, D.: Correction of exercise-induced microalbuminuria in insulin-dependent diabetics after 3 weeks of subcutaneous insulin infusion
Diabetes 30: 818-823, 1981
151. Viberti, G.C., Strakosch, C.R., Keen, H., Mackintosh, D., Dalton, N., Home, P.D.: The influence of glucose-induced hyperinsulinaemia on renal glomerular function and circulating catecholamines in normal man
Diabetologia 21: 436-439, 1981
152. Viberti, G.C., Jarrett, R.J., Mahmud, U., Hill, R.D., Argyropoulos A., Keen, H.: Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus
The Lancet: 1430-1432, 1982

153. Viberti, G.C., Mackintosh, D., Bilous, R.W., Pickup, J.C., Keen, H.:
Proteinuria in diabetes mellitus: Role of spontaneous and
experimental variation of glycemia
Kidney Int. 21: 714-720, 1982

154. Viberti, G.C., Mackintosh, D., Keen, H.: Determinants of the
penetration of proteins through the glomerular barrier in
insulin-dependent diabetes mellitus
Diabetes 32 (Suppl.2): 92-95, 1983

155. Virella, G., Wohltman, H., Sagel, J., Lopes-Virella, M.F.L.,
Kilpatrick, M., Philips, C., Colwell, J.: Soluble immune
complexes in patients with diabetes mellitus. Detection
and pathological significance
Diabetologia 21: 184-191, 1981

156. Vittinghus, E., Mogensen, C.E.: Albumin excretion during
physical exercise in diabetes. Studies on the effect of
insulin treatment and of the renal haemodynamic response
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 61-62, 1981

157. Walter, H., Kemmler, W., Kestler, Ch., Gerbitz, K.D., Mehnert, H.:
Behandlung von Typ I Diabetikern mit tragbaren nicht
rückgekoppelten Insulindosiergeräten: Probleme der Stoff-
wechselführung
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 87: 127-130, 1981

158. Watkins, P.J.: Predicting deterioration in renal function
Acta Endocrinol. 97: 55-56, 1981

159. Watkins, P.J.: ABC of diabetes: Nephropathy
Brit. Med. J. 285: 627-629, 1982

160. Wehner, H., Stiefel, S.: Klinisch-morphologische Korrelation
bei verschiedenen Formen der diabetischen Glomerulo-
sklerose
Klin. Wschr. 60: 767-772, 1982
161. West, K.M.: Epidemiology of Diabetes and its vascular
lesions
Elsevier, New York, Oxford, 1978
162. Westberg, N.G., Michael, A.F.: Immunohistopathology of
diabetic glomerulosclerosis
Diabetes 21: 163-174, 1972
163. Westberg, N.G.: Diabetic nephropathy. Pathogenesis and
prevention
Acta Endocrinol. 94 (Suppl.238): 85-101, 1980
164. Westberg, N.G.: The biochemical changes in early and
advanced diabetic glomerulosclerosis are constant
Acta Endocrinol. 97 (Suppl.242): 57-58, 1981
165. WHO Expert Committee on diabetes mellitus
2nd report
World Health Organisation, Technical Report series 646
Geneva 1980
166. Wieland, O.H.: Zur Rolle der Hyperglykämie in der Patho-
biochemie des Diabetes mellitus
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 87: 1-12, 1981
167. Williamson, J.R., Kilo, C.: Current status of capillary
basement-membrane disease in diabetes mellitus
Diabetes 26: 65-71, 1977

168. Williamson, J.R., Kilo, C.: Capillary basement membranes in diabetes
Diabetes 32 (Suppl.2): 96-100, 1983
169. Winetz, J.A., Golbetz, H.V., Spencer, R.J., Lee, J.A., Myers, B.D.:
Glomerular function in advanced human diabetic nephropathy
Kidney Int. 21:750-756, 1982
170. Woo, J., Cannon, D.C.: A quality control program for the radio-immunoassay laboratory
Am. J. clin. Pathol. 66: 854-862, 1976
171. Woo, J., Floyd, M., Cannon, D.C., Kahan, B.: Radioimmunoassay for urinary albumin
Clin. Chem. 24/9: 1464-1467, 1978

Lebenslauf

Ich wurde am 28. Juni 1956 als ältestes von drei Kindern des Werbeleiters Karl Schlagmann und seiner Ehefrau Christel, geb. Pepper, in Dülmen geboren.

Schulbildung:

1963 - 1967: Grundschule in Wendlingen/Neckar

1967 - 1976: Gymnasium Füssen, dort im Juni 1976 Abitur

Studium:

WS 76/77 - SS 78: Studium der Medizin an der Universität Regensburg, dort im August 1978 Physikum.

WS 78/79 - WS 82/83: Klinische Ausbildung an der Technischen Universität München; Praktisches Jahr in Innerer Medizin und Chirurgie im Klinikum Rechts der Isar, Wahlfach: Dermatologie im Klinikum am Biederstein in München.

Ablegung des 1. Teils der Ärztlichen Prüfung im August 1979, des 2. Teils im August 1981, des 3. Teils im April 1983.

Approbation: April 1983

Herbst 1980: Beginn des praktischen Teils der vorliegenden Dissertation unter Anleitung von Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Kemmler im Institut für Diabetesforschung, München

Famulaturen:

Frühjahr 1979: Gynäkologische und Geburtshilfliche Abteilung des Kreiskrankenhauses Füssen; Sommer 1979: Internistische Praxis in München; Frühjahr 1981: 3. Med. Abteilung des Schwabinger Krankenhauses (Prof. Mehnert); Sommer 1981: Kinderabteilung und Chirurgische Ambulanz des Auburn District Hospital in Sydney, Australien.

derzeit tätig als wiss. Assistentin am Pharmakologischen Institut der Universität München.

